MTB-C5 FIGURES

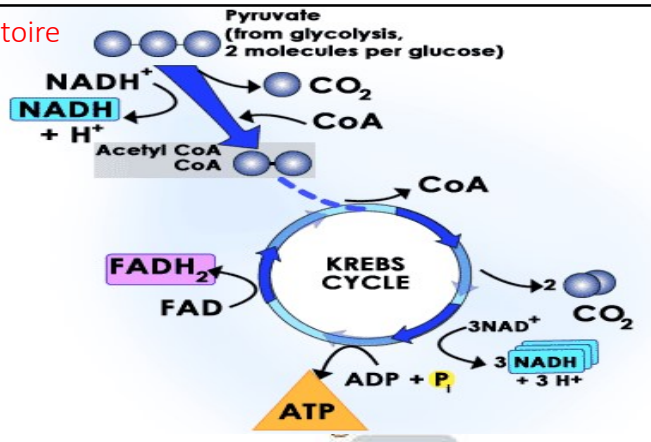
Théorie chimio-osmotique de Mitchell
force protonmotrice

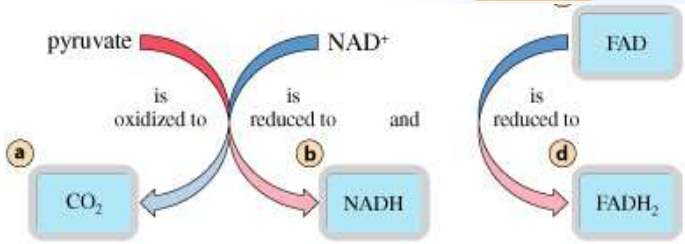
- **La théorie chimiosmotique postule que le gradient de concentration de protons créé à travers la membrane sert de réservoir d'énergie libre pour la synthèse d'ATP.**
- **Théorie chimio-osmotique de Mitchell** implique l'**interconvertibilité** de **l'énergie osmotique**, le gradient de protons, et de **l'énergie chimique** de la cellule.
- Le passage des H^+ de la matrice à l'espace intermembranaire génère:
  1. un **gradient de pH** (pH matrice> pH espace inter. = pH cytosol) et
  2. un **gradient de voltage ou DDP transmembranaire** (matrice à un potentiel négatif par rapport à espace inter.).
- Le chaîne de transport d'électrons est constitué de **4 complexes.**
- Le **passage des protons** par les complexes **I, III et IV** conduit à la création d'un gradient de concentration de protons et donc une différence de pH entre l'espace inter-membranaire et la matrice (**ΔpH**).
- Dans le même temps, le **transfert des électrons** dans la chaîne crée une **différence de potentiel** électrique(**ΔΨ**).
- La théorie chimio-osmotique de Mitchell repose sur la force proton-motrice (Δp) engendrée par le **pompage des protons** et s'exprime de la façon suivante:
- ***Δp = Δ Ψ- Z ΔpH***
  - ***Z: valence de l'ion considéré***
  - ***ΔpH: différence de pH entre l'espace inter-membranaire et la matrice***
  - ***ΔΨ : différence de potentiel électrique.***

1

Couplage du cycle de Krebs à la chaîne respiratoire

- Les composés réduits, **NADH et $FADH_2$**, formés au cours de la glycolyse, de l'oxydation des acides gras et du cycle de Krebs sont très "**riches en énergie**".
- **NADH et $FADH_2$** vont être **réoxydés** par perte d'hydrogène (**proton et électron**).





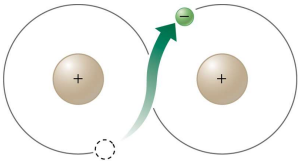
2

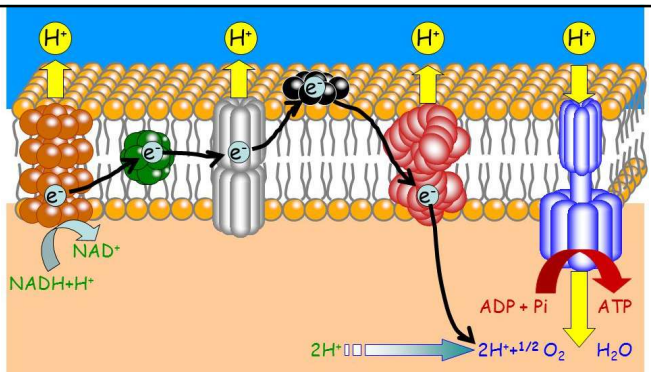
MTB-C5 FIGURES

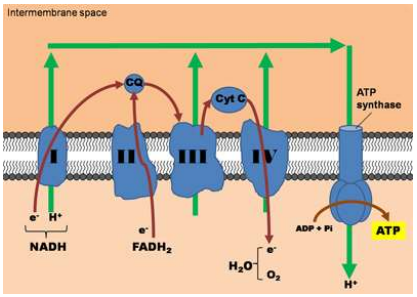
Couplage du cycle de Krebs à la chaîne respiratoire

- **électrons** à **haut potentiel** d'énergie seront transférés à la **chaîne respiratoire.**
- finalement à **une molécule d'oxygène** qui en réagissant avec les protons donne de **l'eau**.

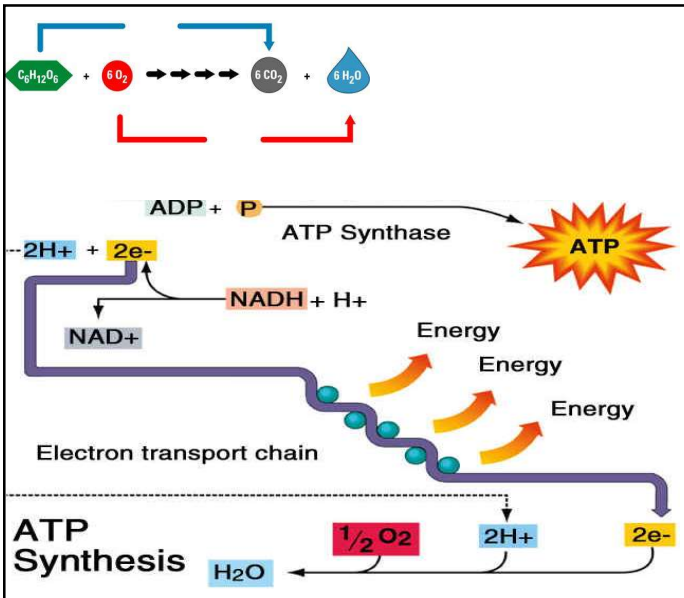
- réactions successives **d'oxydoréduction** de la chaîne respiratoire permet de **libérer l'énergie disponible** dans les **NADH et $FADH_2$** par étapes et d'en récupérer une partie pour la phosphorylation oxydative.

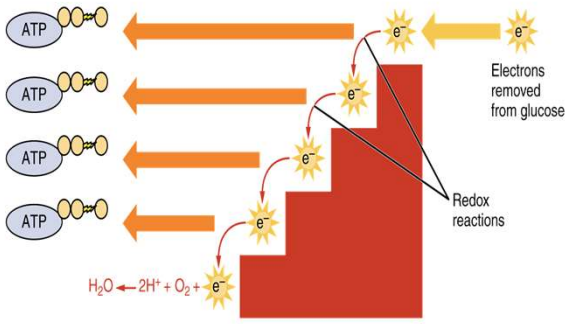






3



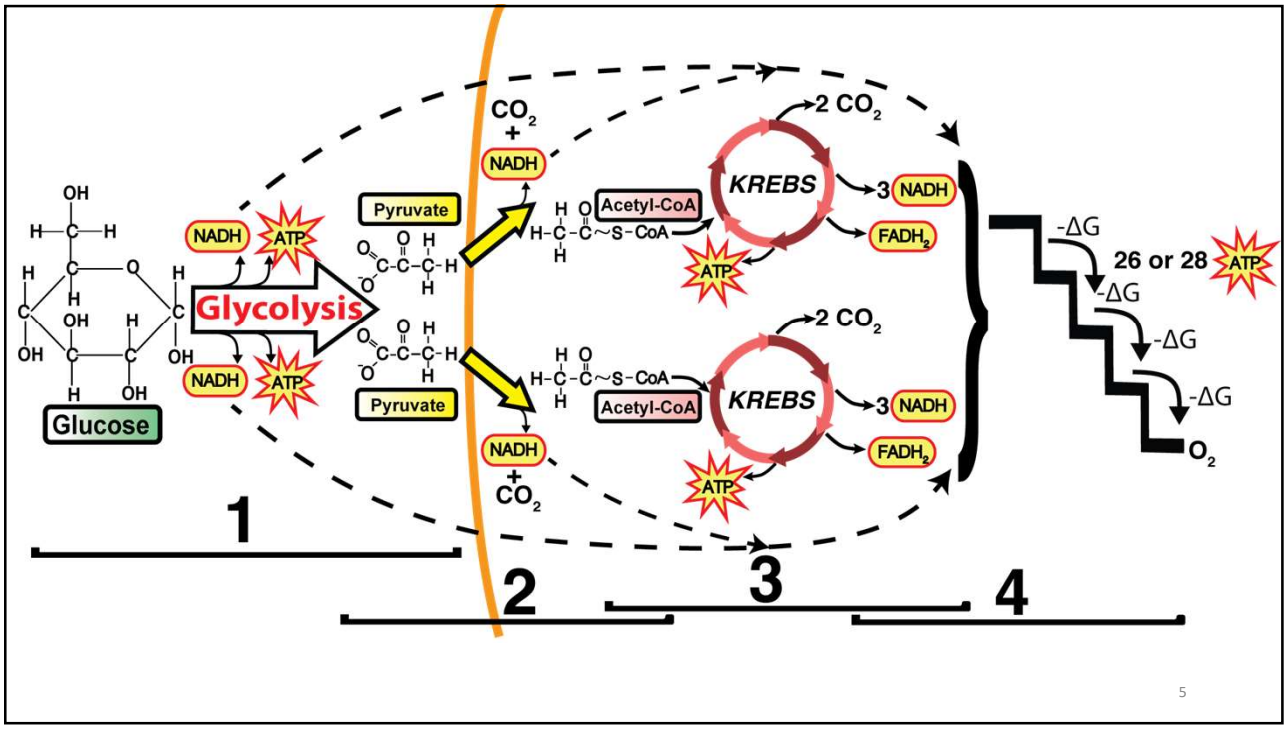


- Dans la mitochondrie, **NADH et $FADH_2$ sont oxydés** grâce à l'intervention de **O_2 alors réduit en H_2O**.

- La chaîne respiratoire mitochondriale **transfère les électrons du NADH (et du $FADH_2$) à O_2 non pas directement**, mais par étapes avec l'intervention de transporteurs intermédiaires situés dans la membrane interne.

4

MTB-C5 FIGURES



l'énergie contenue dans les transporteurs

Couple Réd-Ox	Potentiel Réd-Ox (E°)
$NADH^+/NADH,H^+$	-0,32 V
FMN/FMNH2	-0,30 V
FAD/FADH2	-0,2 V
Q/QH2	+0,04 V
cyto b Fe^{3+}/cyto b Fe^{2+}	+0,07 V
cyto c1 Fe^{3+}/cyto c1 Fe^{2+}	+0,22 V
cyto c Fe^{3+}/cyto c Fe^{2+}	+0,25 V
cyto a Fe^{3+}/cyto a Fe^{2+}	+0,29 V
cyto a3 Fe^{3+}/cyto a3 Fe^{2+}	+0,55 V
$½O_2/H_2O$	+0,82 V

6

MTB-C5 FIGURES

$$2\ NADH + 2\ H^+ + 4e^- + O_2 \rightarrow 2NAD^+ + 2H_2O$$

variation d'énergie libre standard, $\Delta G°'_{réaction}$:

$$\Delta G°'_{réaction} = -n.F.\Delta E°'_{réaction} = -(2 \times 96500 \times 1{,}14) = -220\ kJ.mol^{-1}$$

la variation d'énergie libre standard de la synthèse de l'ATP = +30,5 kJ.mol^{-1} ,
la variation d'énergie libre standard liée à la oxydation du (NADH , H$^+$) = 220 kJ.mol^{-1}
en théorie, 220 kJ.mol^{-1} **permettre la synthèse d'environ 7 molécules d'ATP :**

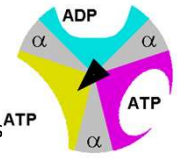
220 kJ.mol^{-1} / 30,5 kJ.mol^{-1} = 7 molécules d'ATP par molécule de (NADH + H$^+$) réoxydé.

En fait ce sont 3 molécules d'ATP qui sont synthétisées.

- **transports d'électrons: exergoniques : Δ G<0**
- **pompage de protons: endergonique : Δ G>0**

7

le potentiel énergétique pour la synthèse d'ATP



- le potentiel énergétique pour la synthèse d'ATP émane de la **force proton motrice**
- c'est le **retour des protons vers la matrice** qui est le moteur de la machinerie de synthès
  - ***4 protons pour synthétiser 1 d'ATP***
  - ***10 protons ont été expulsés par paire d'électrons issus du (NADH , H$^+$).***
  - ***1 NADH , H$^+$ = approx. 3 ATP [exact.=2.5 ATP]***

potentiel de réduction d'un couple redox:

- On mesure un potentiel de réduction standard à l'aide d'une pile électrochimique constituées de **2 demi-piles**.
- **Chaque demi** pile constitue **un couple redox** et est le **siège d'une réaction redox**.
- Quand on **mesure le potentiel rédox standard** d'un couple rédox, l'une de ces demi-piles sert de référence pour la mesure.
- demi-pile de **référence est l'électrode à hydrogène** (qui est le siège de l'oxydation de l'hydrogène)
- Plus **E° est élevé**=un pouvoir oxydant élevé.
- Plus **E° est faible**=un pouvoir réducteur élevé.

8

MTB-C5 FIGURES

Le potentiel de réduction standard

- **Cette demi-pile de référence** est **l'électrode à hydrogène** (qui est le siège de l'oxydation de l'hydrogène) :
- la demi-pile de référence contient de l'hydrogène gazeux (H_2) à une pression de 1 atmosphère
- une solution de H^+ à une concentration de 1M , pH = 0
- **le potentiel de réduction du couple redox ($2H^+/H_2$) est le potentiel de réduction standard : E°.**
- **Pour les réactions biologiques**:
- les conditions de référence se rapportent à une concentration d'ions H^+ de 10^{-7} M (pH = 7) dans la demi pile de référence.
- pour les réactions biologiques, on a défini un potentiel de réduction standard dans les conditions physiologiques : E°'.

$$\Delta E°'_{réaction} = E°'_{B} - E°'_{A}$$

$$\Delta E^{0'} = E^{0'}_{(accepteur)} - E^{0'}_{(donneur)}$$

- **NB: pour les réactions biologiques, on a défini un potentiel de réduction standard dans les conditions physiologiques : E°'**

9

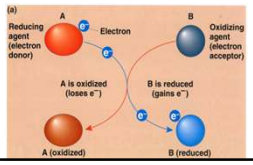
Couples Redox

	$E^{0'}$ (volts)
$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH + H^+$	-0.32
$O_2 + 4H^+ + 4e^- \longrightarrow 2H_2O$	0.815

$$2\ NADH + 2\ H^+ + 4e^- + O_2 \longrightarrow 2NAD^+ + 2H_2O \quad 1.135$$

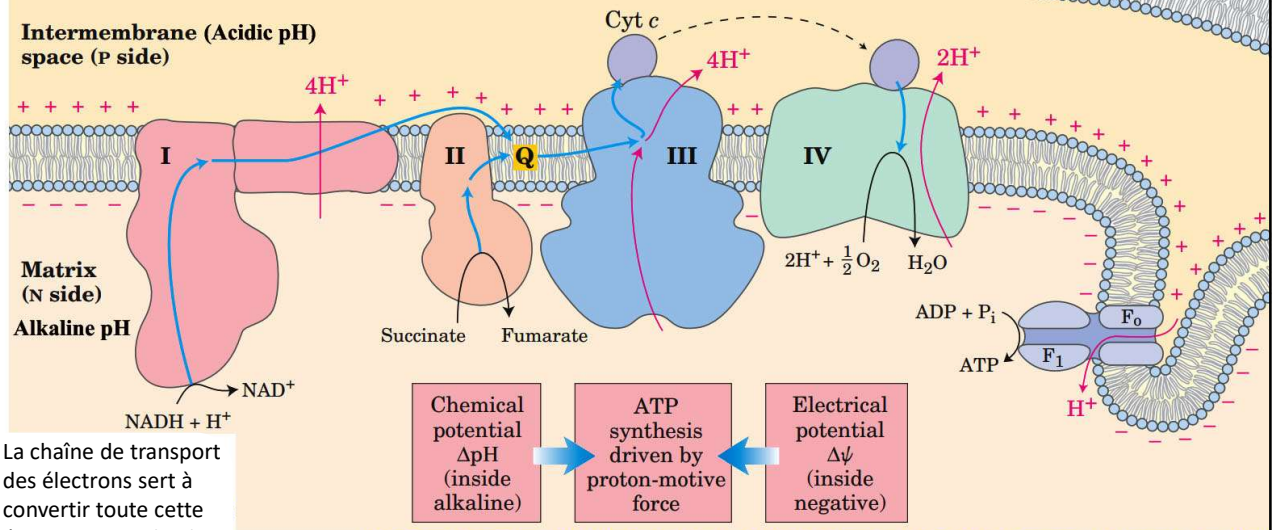
- **Comme NAD^+/NADH est plus négatif que O_2/H_2O, les électrons se deplaceront du NADH (réducteur) vers O_2 (oxydant).**

$$\Delta E^{0'} = E^{0'}_{(accepteur)} - E^{0'}_{(donneur)}$$



10

MTB-C5 FIGURES



La chaîne de transport des électrons sert à convertir toute cette énergie en ATP le plus efficacement possible.

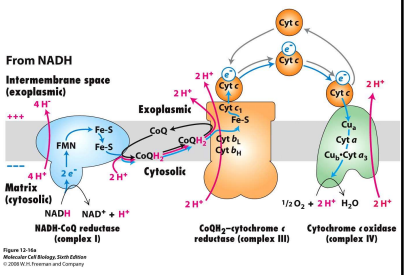
Lehninger Principles of Biochemistry (5th E, 2008) By Nelson and Cox, W.H. Freeman & Company, New-York

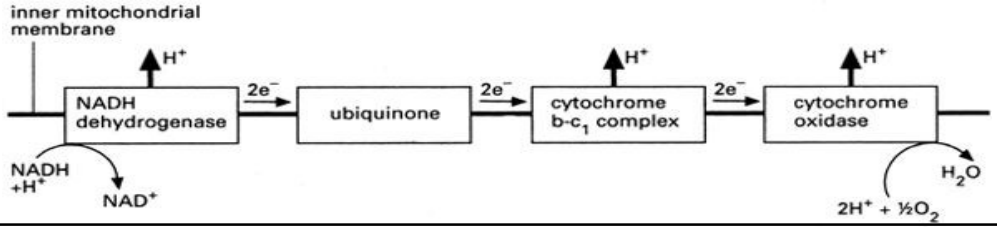
Electron transport and ATP synthesis are coupled by transmembrane proton fluxes

11

La chaîne de transport des électrons

- La chaîne respiratoire fait partie du **métabolisme énergétique** de la plupart des êtres vivants. D'une part, le terme chaîne respiratoire désigne une **voie métabolique**,
- une **chaîne de réactions redox biochimiques** successives, qui servent les êtres vivants pour la **production d'énergie**.
- Parallèlement au transport des électrons, des **protons sont pompés** dans **l'espace intermembranaire** de la mitochondrie.
- **C'est à partir de ce gradient chimique que l'ATP est produite par phosphorylation oxydative.**





12

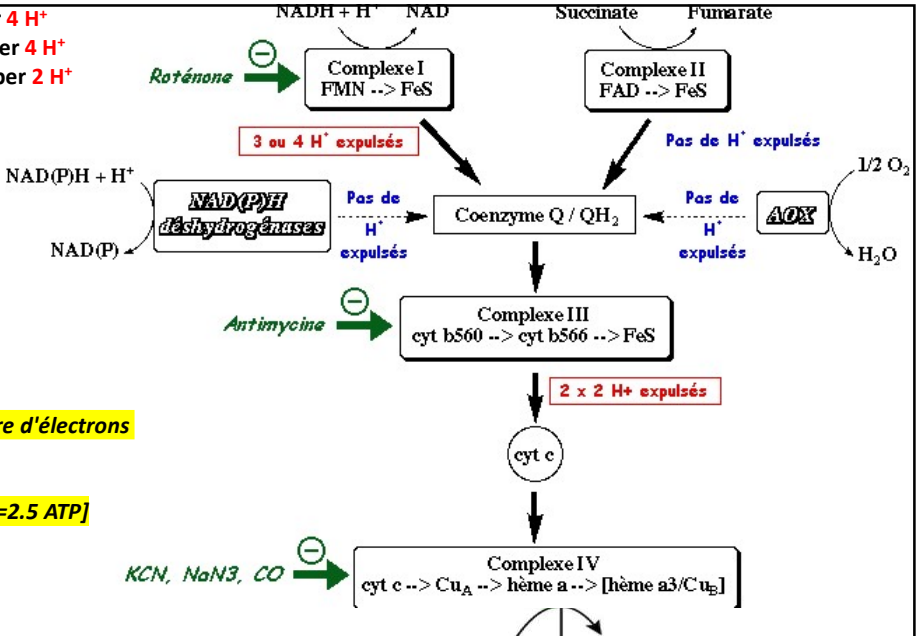
MTB-C5 FIGURES

- **Le complexe I : NADH - coenzyme Q oxydoréductase/ NADH déshydrogénase /*les électrons circulent à travers le complexe I, 4x protons sont pompés hors de la matrice. / Le complexe I catalyse le transfert de 2 électrons du NADH au coenzyme Q /***
- **Le complexe II : succinate - coenzyme Q oxydoréductase/Succinate déshydrogénase/ Complexe II est le deuxième point d'entrée des électrons dans la chaîne respiratoire. / Complexe II catalyse la réduction de la coenzyme Q/*porté par le (NADH, H+) formé lors de la glycolyse est transféré sous forme de FADH2 dans la mitochondrie par des systèmes de navette glycérol phosphate ./ le complexe II ne contribue pas à l'expulsion de protons de la matrice vers l'espace intermembranaire.***
- **Le complexe III : coenzyme Q - cytochrome c oxydoréductase / Cytochrome c reductase / Le complexe III catalyse: l'oxydation d'une molécule d'ubiquinol QH2 et la réduction de deux molécules de cytochrome c. / Les électrons sont cédés par le complexe III au cytochrome c qui les amène au complexe IV./L'hème est un groupe prosthètique des cytochromes. / Il contient un atome de fer au sein d'un noyau porphyrine. / Les complexes III pourraient pomper 4 H+ /**
  - **Le complexe IV : cytochrome c oxydase / catalyse le transfert d'électrons à une molécule d'oxygène [Il catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire en eau] : 4 électrons sont transférés un à un du cytochrome c au complexe IV. / Le complexe IV est constitué entre autre :** du ***cytochrome a*** qui porte les groupes hème b_{560} et b_{566} / du ***cytochrome a3 /*** de 2 atomes de cuivre ***Cu_A et Cu_B / Le complexe IV expulse 2 protons de la matrice vers l'espace intermembranaire. / Le complexe IV expulse 2 protons de la matrice vers l'espace intermembranaire. /***

- **Les complexes I, III, IV pourraient pomper respectivement 4, 4 et 2 H^+ par paire d'électrons transférés.**

13

Les complexes I pourraient pomper 4 H^+
Les complexes III pourraient pomper 4 H^+
Les complexes IV pourraient pomper 2 H^+ par d'électrons transférés



4 protons pour synthétiser 1 d'ATP

10 protons ont été expulsés par paire d'électrons issus du (NADH , H^+).

1 NADH , H^+ = approx. 3 ATP [exact.=2.5 ATP]

14

MTB-C5 FIGURES

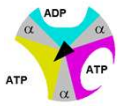
Inhibiteurs

Complexe	Inhibiteur	Utilisation
I	Roténone	Pesticide
II	Malonate Oxaloacétate	Poisons
III	Antimycine A	Piscicide
IV	CN^- CO H_2S	Poisons

15

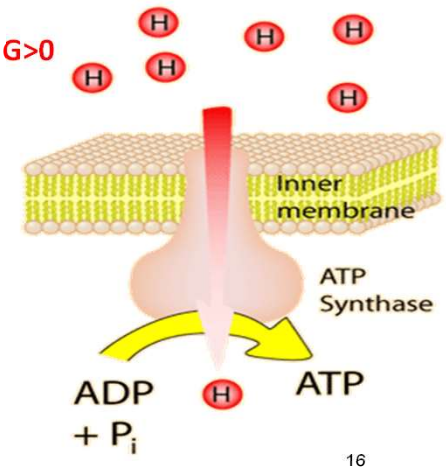
l'ATP synthase

Le mouvement des H^+ est couplé avec la phosphorylation de l'ADP en ATP



- **H^+** peuvent s'écouler de l'espace intermembranaire **vers la matrice** par l'intermédiaire de **l'ATP synthase**.
- ***mouvement des H^+ : exergonique :*** **Δ G<0**
- ***phosphorylation de l'ADP en ATP:*** *réaction endergonique* **: Δ G>0**

- Sous l'effet de la force proton-motrice, des H+ peuvent s'écouler de l'espace intermembranaire vers la matrice par l'intermédiaire **de l'ATP synthase**, **l'ATP synthase est une** complexe enzymatique qui **constitue une domaine hydrophile à travers la bicouche phospholipidique**.

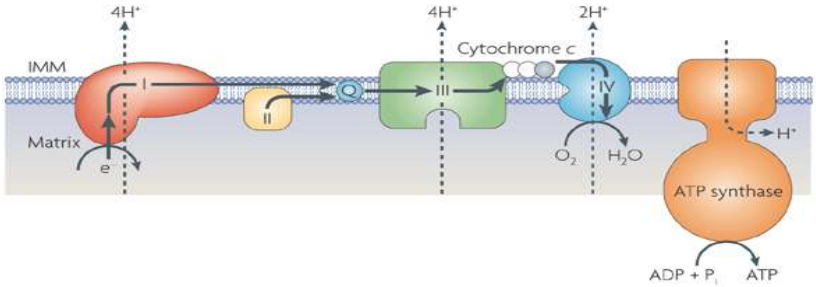


16

MTB-C5 FIGURES

Approx. 3 molécules d'ADP pourraient être phosphorylées quand 1 molécule de NADH est oxydée par la chaîne respiratoire

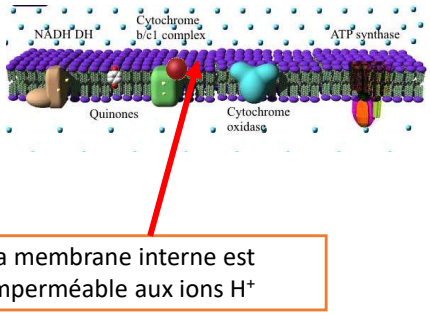
- **Approx. 2 molécules** d'ADP pourraient être phosphorylées quand 1 molécule de **FADH2** est oxydée par la chaîne respiratoire
- L'**ATP** est ensuite **exporté (navette) vers le cytosol**
-
- La **chaîne respiratoire** "classique" convertit une bonne partie de l'énergie de l'oxydation des petites molécules NADH et FADH2 en énergie retrouvée dans la liaison phosphate créée lors de la synthèse de l'ATP à partir de l'ADP. Le reste est dissipé sous forme de chaleur.



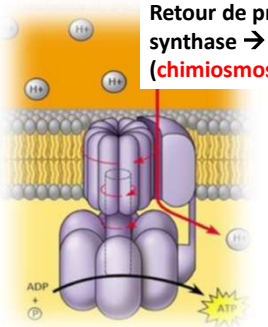
17

ATP synthétase

- **Simultanément au passage des électrons dans la chaîne de transport des électrons, des ions H+ sont transportés dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie**
- **L'accumulation de ces ions crée un gradient d'énergie chimique résultant de différences de concentration d'ions hydrogène (pH) de chaque côté de la membrane interne.**
- **La chaîne de transport d'électrons fonctionne comme une pompe à protons.**
- Le **retour des protons** dans la **matrice** (de mitochondrie) ne peut se produire qu'au niveau de passages spécifiques constitués par **l'ATP synthase (complexes FoF1)** :
- **Fo est un canal transmembranaire** qui laisse passer sélectivement **les protons**, **F1** contient le site catalytique responsable de la **synthèse de l'ATP** à partir d'ADP et de Pi.
- Le **gradient électrochimique de protons fournit ainsi l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP**.



La membrane interne est imperméable aux ions H+



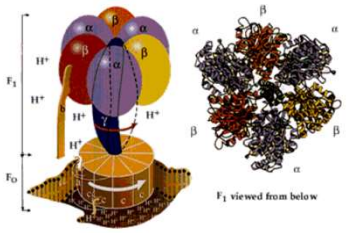
Retour de protons par ATP synthase → l'ATP (chimiosmose).

18

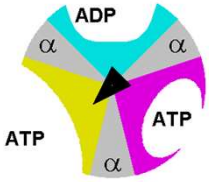
MTB-C5 FIGURES

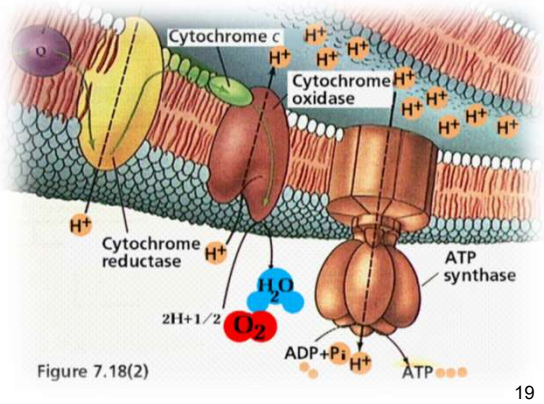
Synthèse de l'ATP

- **L'ATP est formé à partir d'ADP et de phosphore inorganique lors du retour des protons vers l'espace intérieur de la mitochondrie.**



- **L'ATP-synthase (ATPase à protons) est une enzyme située dans des pores à la surface de la membrane interne de la mitochondrie qui capture l'énergie chimique relâchée par le retour des protons vers la matrice de la mitochondrie.**



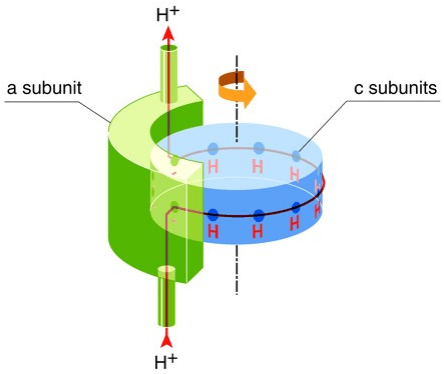


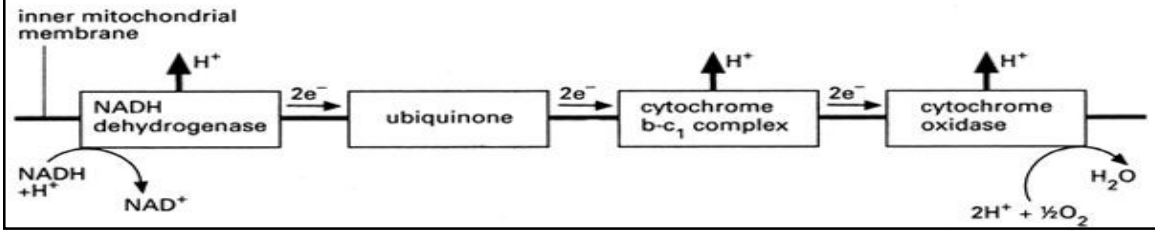
19

ATP synthase

la force proton motrice

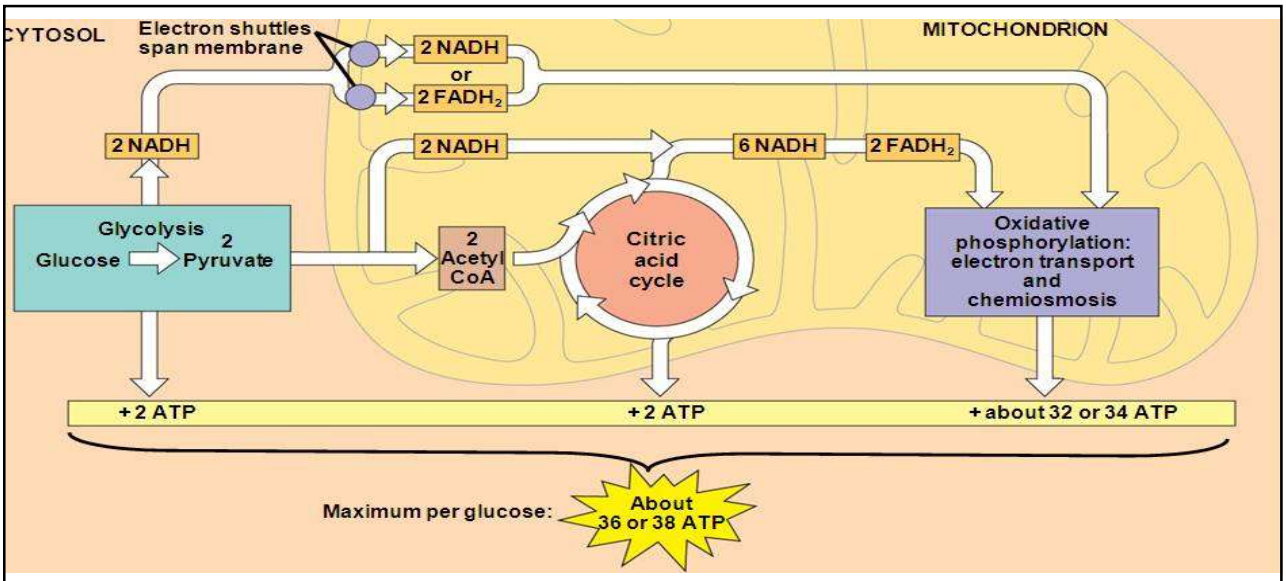
- le potentiel énergétique pour la synthèse d'ATP : la **force proton motrice**
- le retour des protons vers la matrice = le moteur de la machinerie de **synthèse de l'ATP**
- 4 protons pour synthétiser 1 molécule d'ATP
- **10 protons ont été expulsés par paire d'électrons issus du (NADH, H^+)**
- **10/4=2.5 [aprox.=3]**





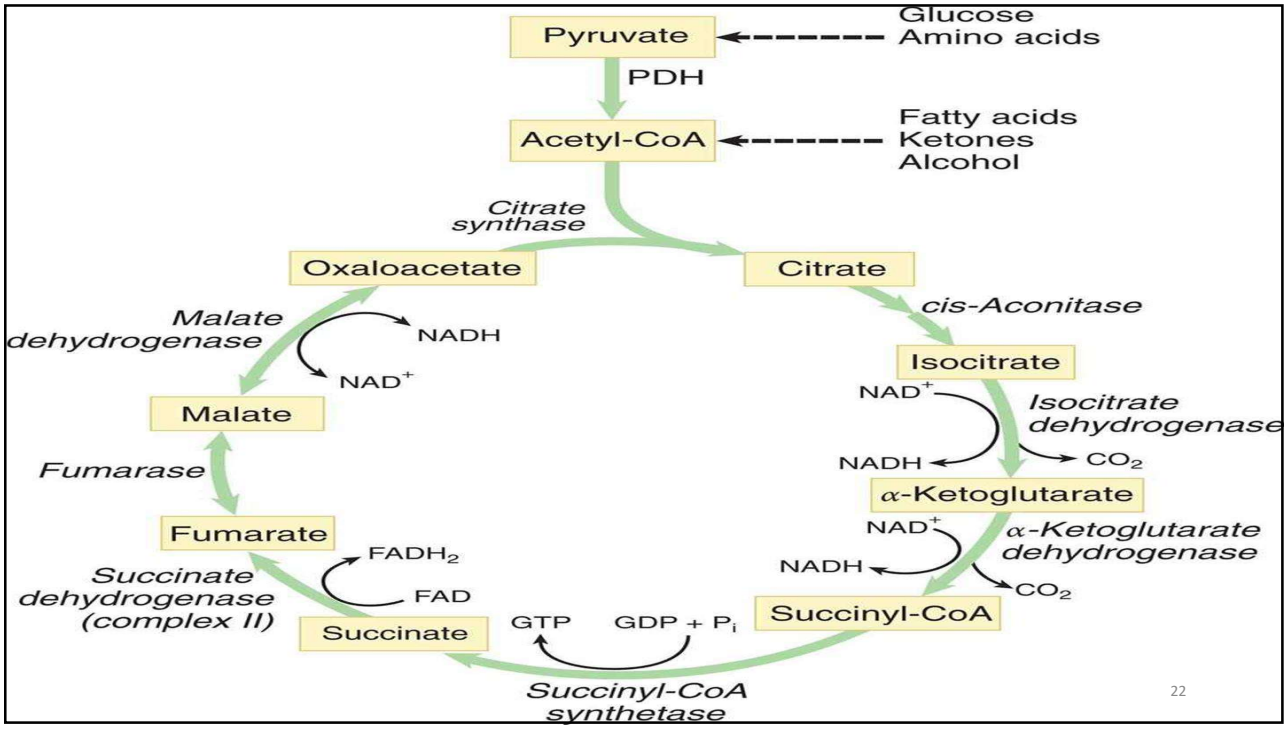
20

MTB-C5 FIGURES



La membrane mitochondriale interne étant imperméable aux coenzymes telles que le NADH, celui traverse cette membrane de façon indirecte

21



22

MTB-C5 FIGURES

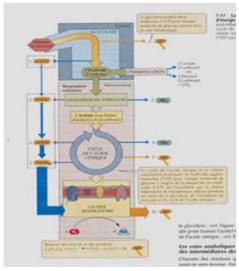
Respiration-SUITE

Rendement brut en ATP de l' oxydation aérobie du glucose

1- glycolyse
2 ATP
2NADH= 6ATP

2- conversion de 2 pyruvates en 2 acétyl-CoA
2NADH = 6ATP

3- Cycle de Krebs
2GTP = 2 ATP
6NADH = 18ATP
2FADH$_2$ = 4 ATP



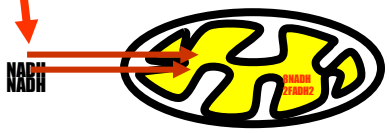
ATP
8
6
24
38 ATP

23

Respiration-SUITE

Rendement net en ATP de l' oxydation aérobie du glucose dans une cellule eucaryote

1- glycolyse
2 ATP
2NADH= 6 ATP
2- conversion de 2 pyruvates en 2 acétyl-CoA
6ATP
3- Cycle de Krebs
2ATP
6NADH= 18 ATP
2FADH$_2$= 4 ATP



ATP
8
6
24

Rendement brut 38 ATP
PÉAGE -2 ATP

Rendement final = 36 ATP

24

MTB-C5 FIGURES

Régulation du cycle d'acide citrique

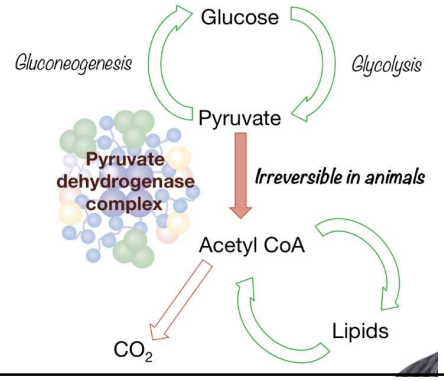
- La glycolyse et la ß-oxydation des acides gras sont les deux processus préparatoires à la récupération de l'énergie des liaisons contenues dans les glucides et les lipides.
- **La glycolyse conduit à la formation du pyruvate** qui peut être converti, dans les mitochondries, **en acétyl-CoA**.
- La **ß-Oxydation** des **acides gras à nombre pair** de carbones fournit directement des **acétyl-CoA** et celle des **acides gras à nombre impair** de carbones des **acétyl-CoA et un propionyl-CoA** .
- Les unités **acétyl-CoA,** issues du pyruvate ou de la dégradation des acides gras, sont complètement **oxydées dans le cycle du citrate**. **le cycle du citrate** est la voie finale commune de l'**oxydation** des molécules énergétiques. Il se déroule entièrement à l'intérieur des **mitochondries**.
- **En tant que voie catabolique le cycle tricarboxylique fournit de l'énergie (en faible quantité sous forme de GTP) des cofacteurs réduits riches en énergie (NADH et FADH2) et aussi des précurseurs pour les biosynthèses.**
- La régulation du cycle de l'acide citrique est importante car les réactions qui ne sont pas contrôlées entraîneront de grandes quantités d'énergie métabolique gaspillée.
- La capacité à réguler le cycle maintient la cellule dans un état stable, et cette fonction est maintenue par trois mécanismes :

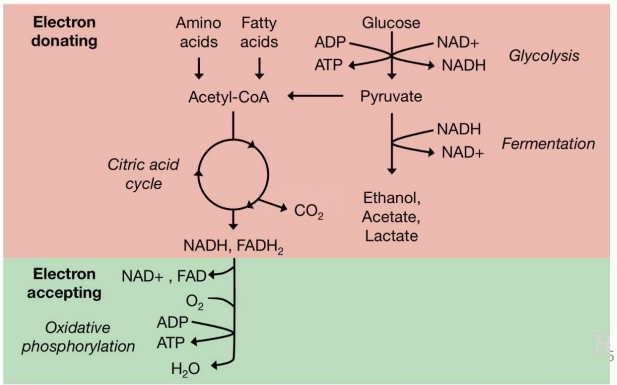
1. **La disponibilité des substrats.**
2. **Inhibition des produits formés.**
3. **Inhibition des enzymes par rétroaction allostérique.**

25

Régulation de l'acétyl CoA

- **Le cycle de l'acide citrique commence par la réaction qui combine l'acétyl CoA à deux carbones avec un acide oxaloacétique à quatre carbones pour produire le citrate de molécule à six carbones.**
- **L'acétyl-CoA est régulé par les quantités contrôlées de pyruvate** qui sont converties en acétyl-CoA dans la réaction du complexe pyruvate déshydrogénase.
- **Le flux de métabolites est inhibé de manière allostérique**, où une enzyme est régulée en liant une molécule effectrice à un site non actif.
- **La réaction du complexe pyruvate déshydrogénase est inhibée de manière allostérique lorsqu'il existe des rapports élevés d'ATP, de NADH et d'acétyl-CoA.**





MTB-C5 FIGURES

Régulation des enzymes dans le cycle de l'acide citrique

- Trois réactions du cycle sont catalysées respectivement par les enzymes :Citrate synthétase.Isocitrate déshydrogénase.α-cétoglutarate déshydrogénase
- La **citrate synthase** est responsable de la **vitesse de réaction dans la première étape du cycle** lorsque l'acétyl-CoA est combiné avec l'acide oxaloacétique pour former du citrate.
  - Il est **inhibé par** des concentrations élevées d'ATP, d'acétyl-CoA et de NADH, ce qui indique un apport énergétique déjà élevé.
  - La molécule produite dans la réaction, le **citrate, peut également agir comme inhibiteur** de la réaction.
  - Parce que la citrate synthase est inhibée par le produit final du cycle de l'acide citrique sous forme d'ATP, **l'ADP (adénosine diphosphate)** agit comme un **activateur allostérique** de l'enzyme.
  - Par conséquent, la **vitesse du cycle de l'acide citrique est réduite lorsque la cellule a un niveau élevé d'ATP.**

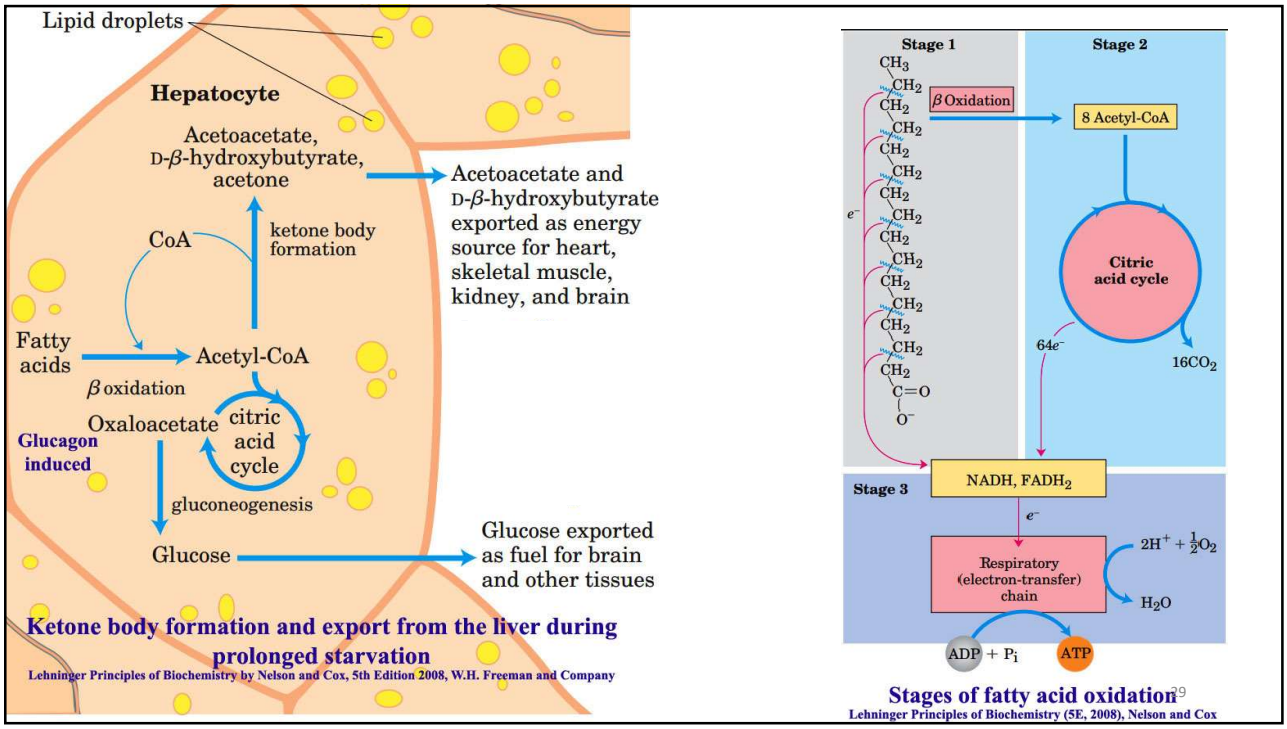
27

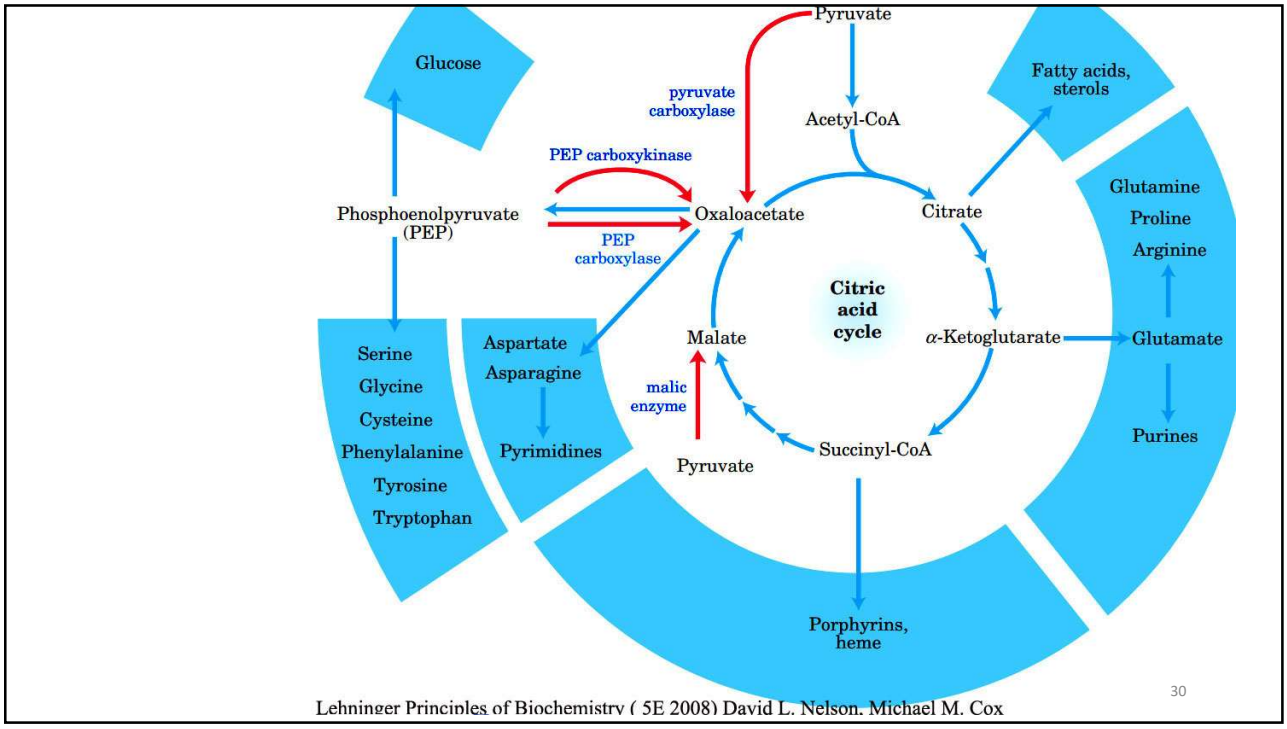
Régulation des enzymes dans le cycle de l'acide citrique

- L'enzyme **isocitrate déshydrogénase** est un catalyseur important dans la troisième étape de la réaction.
  - Il régule la **vitesse à laquelle l'isocitrate isomère citrate perd un carbone** pour former la molécule à cinq carbones α-cétoglutarate.
  - La **coenzyme NADH** est un produit de la réaction et, à des niveaux élevés, agit comme un **inhibiteur** en déplaçant directement les molécules de NAD+ à partir desquelles elle est formée.
- L'enzyme **α-cétoglutarate déshydrogénase** est un autre catalyseur important dans la quatrième étape du **cycle de l'acide citrique** où **l'α-cétoglutarate perd également un carbone** et se combine avec la coenzyme A pour former du succinyl CoA.
- Les deux produits de la réaction, **le succinyl CoA et le NADH**, agissent tous deux comme **inhibiteurs** à de fortes concentrations.

28

MTB-C5 FIGURES





MTB-C5 FIGURES

cycle d'acide citrique /KREBS

- Le pyruvate est oxydé en acétyl-CoA.
- Cette réaction est catalysée par le complexe multi-enzymatique de la pyruvate déshydrogénase (complexe PDH) constitué de 3 enzymes principales:

1. La pyruvate déshydrogénase (enzyme E1), ayant la thiamine pyrophosphate (TPP) comme groupement prosthétique, assure la décarboxylation du pyruvate et le transfert du radical obtenu sur le lipoate.
2. La dihydrolipoyl transacétylase (Enzyme E2) transfère le radical acétyle du lipoate sur le coenzyme A, permettant ainsi la libération de l'acétyl-CoA.
3. La dihydrolipoyl déshydrogénase (enzyme E3) est une flavoprotéine qui oxyde le dihydrolipoate et transfère les électrons et les protons sur le NAD+

- La séquence des réactions conduit à l'oxydation complète de l'acétyl-CoA en 2 molécules de CO_2 et à la régénération de l'oxaloacétate, accepteur catalytique du cycle d'acide citrique.
- Nous diviserons ce dernier en deux phases :

1. **une phase d'oxydation totale de l'acétyl-CoA et**
2. **une phase où intervient la séquence de réactions de régénération de l'oxaloacétate**

31

cycle d'acide citrique /KREBS

- **A – PHASE1 : ETAPES ENZYMATIQUES DE L'OXYDATION DE L'ACETYL-CoA**
- 1–- **FORMATION DU CITRATE** Le cycle débute par la condensation de ''oxaloacétate (en C4) avec ''acétyl-CoA (en C2) pour former le citroyl-CoA (en C6) qui, en présence de l'eau, est hydrolysé en citrate. L'enzyme qui intervient est la citrate synthase (une lyase).
- 2–- **ISOMERISATION DU CITRATE EN ISOCITRATE** Cette isomérisation est le résultat d'une déshydratation et d'une réhydratation effectuées par une enzyme appelée la cis-aconitase.

32

MTB-C5 FIGURES

cycle d'acide citrique /KREBS

- **A – PHASE1 : ETAPES ENZYMATIQUES DE L'OXYDATION DE L'ACETYL-CoA**
- 3 - **DESHYDROGENATION DECARBOXYLANTE DE L'ISOCITRATE** C'est la première des 4 réactions d'oxydoréduction du cycle du citrate. La décarboxylation est consécutive à la déshydrogénation de l'isocitrate. Cette dernière fait apparaître une fonction cétone en position b par rapport à la fonction carboxylique médiane. Il se forme l'oxalosuccinate (intermédiaire instable) qui se décarboxyle spontanément en formant une molécule de l'a-cétoglutarate. La réaction est catalysée par l'isocitrate déshydrogénase à NAD+. Il existe deux isocitrate déshydrogénase : l'une à NAD+ rencontrée exclusivement dans les mitochondries et fonctionnant dans le cycle tricarboxylique, l'autre à NADP+ présente à la fois dans les mitochondries et dans le cytoplasme et ayant un rôle différent.
- 4–- **DESHYDROGENATION DE L'a-CETOGLUTARATE** C'est la deuxième réaction d'oxydoréduction. Elle est catalysée par le complexe multi-enzymatique de l'a-cétoglutarate déshydrogénase, analogue à celui de la pyruvate déshydrogénase Il se forme du succinyl-CoA. La déshydrogénation de ce composé est exergonique et fournit une énergie suffisante pour la formation d'une liaison thioester, riche en énergie. Les cofacteurs suivants interviennent : TPP, lipoate, HSCoA, FAD et NAD+.

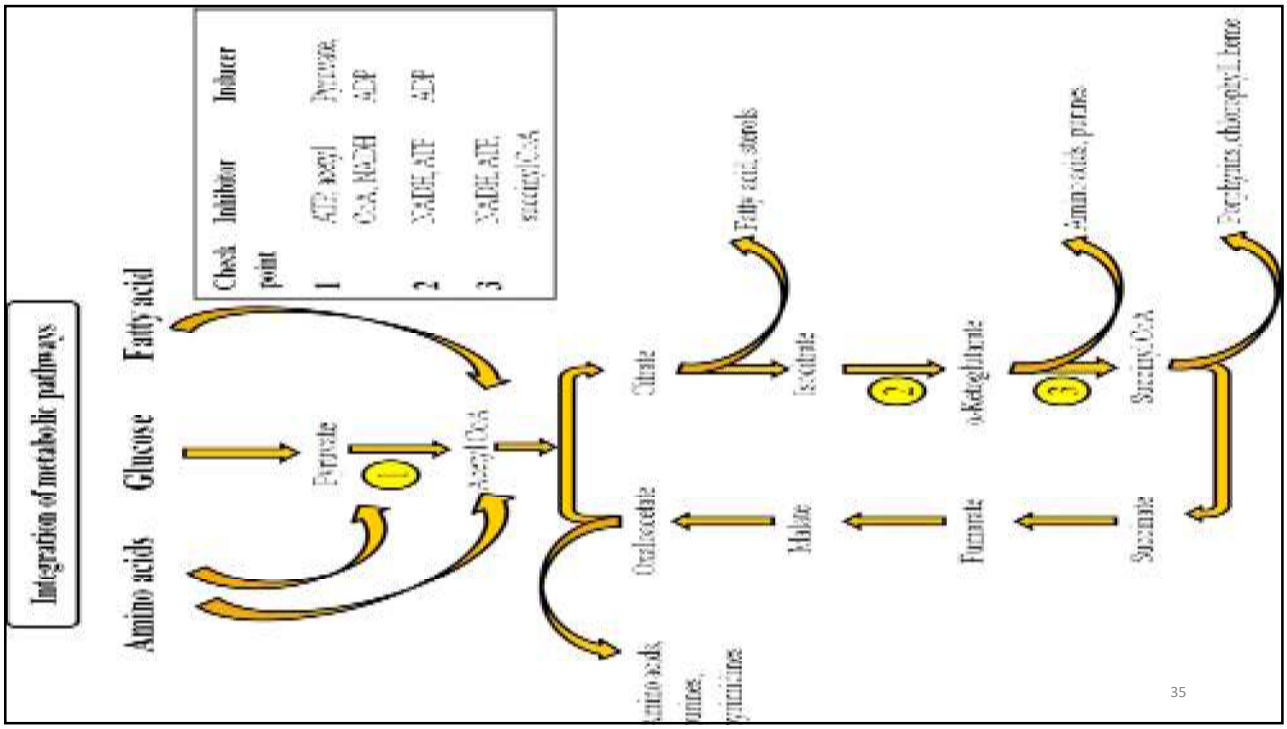
33

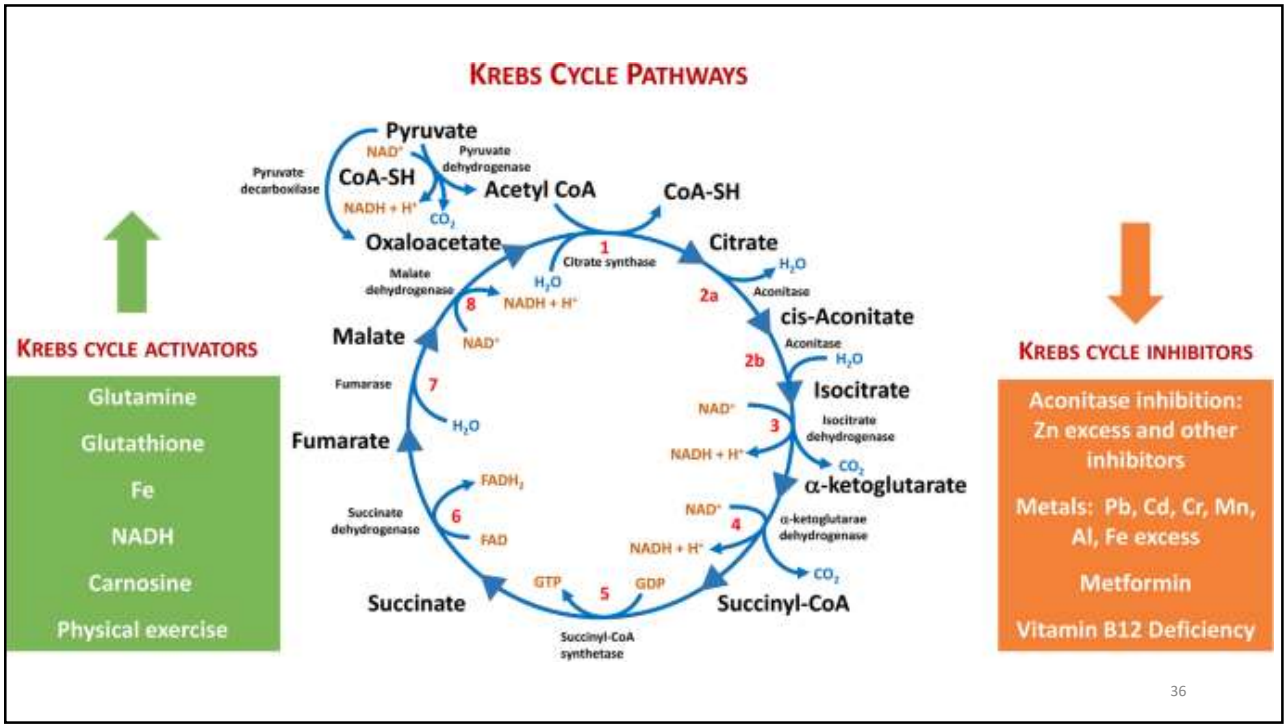
cycle d'acide citrique /KREBS

- **B – PHASE 2 : REGENERATION DE L'OXALOACETATE Dans cette phase toutes les réactions qui conduisent du succinyl-CoA à l'oxaloacétate sont réversibles.**
- 5–- **FORMATION D'UNE LIAISON RICHE A PARTIR DU SUCCINYL-CoA** La liaison thioester est très riche en énergie. En présence du phosphate et du GDP, elle est utilisée pour la synthèse du GTP. La réaction est catalysée par une succinyl-CoA synthétase, ou une succinate thiokinase. Il se forme du succinate qui sera oxydé dans la séquence des réactions terminales du cycle pour régénérer l'oxaloacétate. Les trois réactions qui composent cette séquence sont réversibles.
- 6.–- **DESHYDROGENATION DE SUCCINATE EN FUMARATE** La réaction est catalysée par la succinate déshydrogénase à FAD (une flavoprotéine) comme accepteur des électrons et des protons. C'est la 3 e réaction de déshydrogénation. Elle conduit à la formation d'une double liaison. Le succinate est oxydé en fumarate.
- 7–- **HYDRATATION DU FUMARATE ET FORMATION DU MALATE** La réaction est catalysée par une lyase (hydratase) : la fumarase ou fumarate hydratase.
- 8–- **DESHYDROGENATION DU MALATE EN OXALOACETATE** C'est la 4e déshydrogénation catalysée par la malate déshydrogénase à NAD+ . Elle termine le cycle :

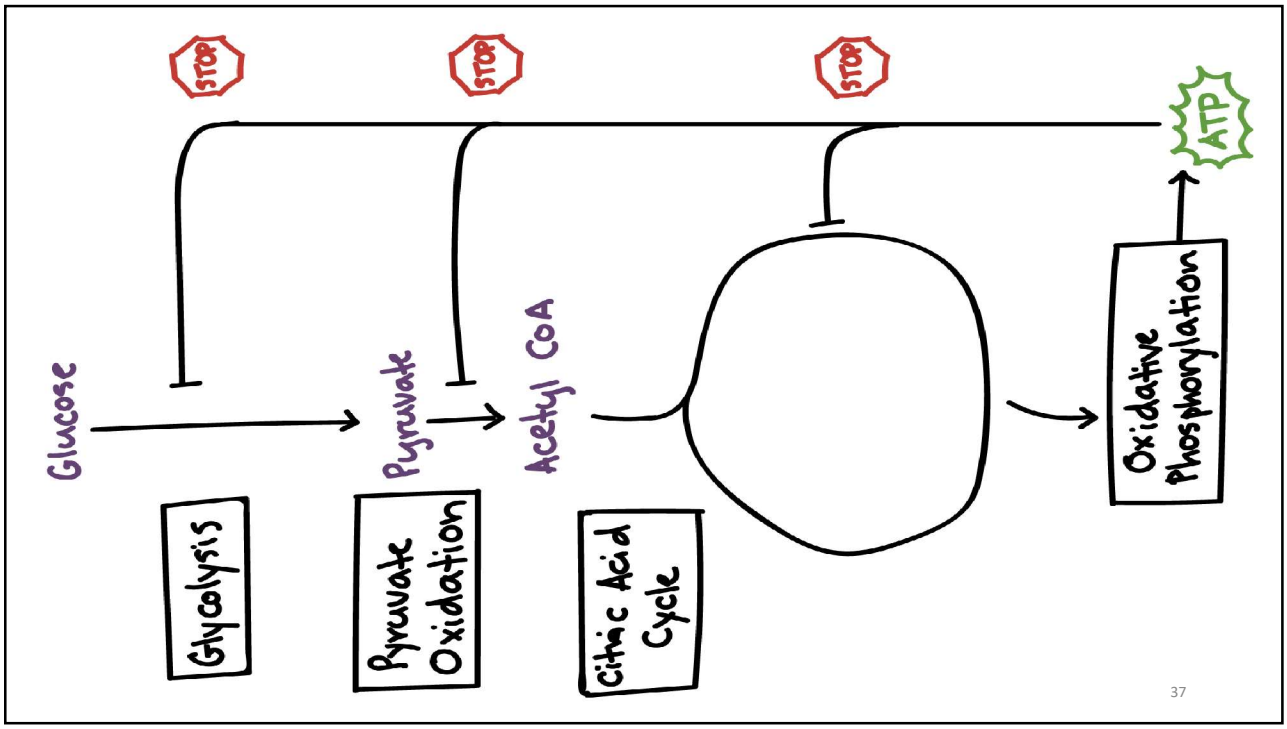
34

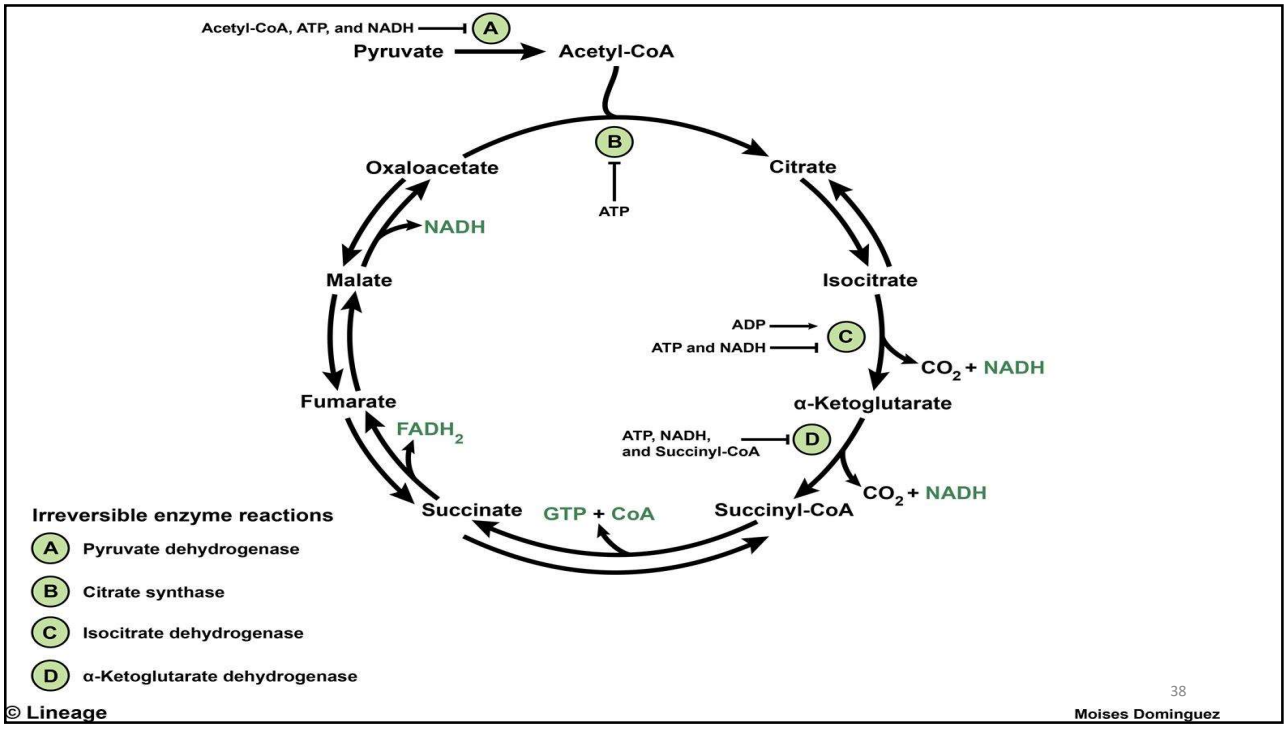
MTB-C5 FIGURES



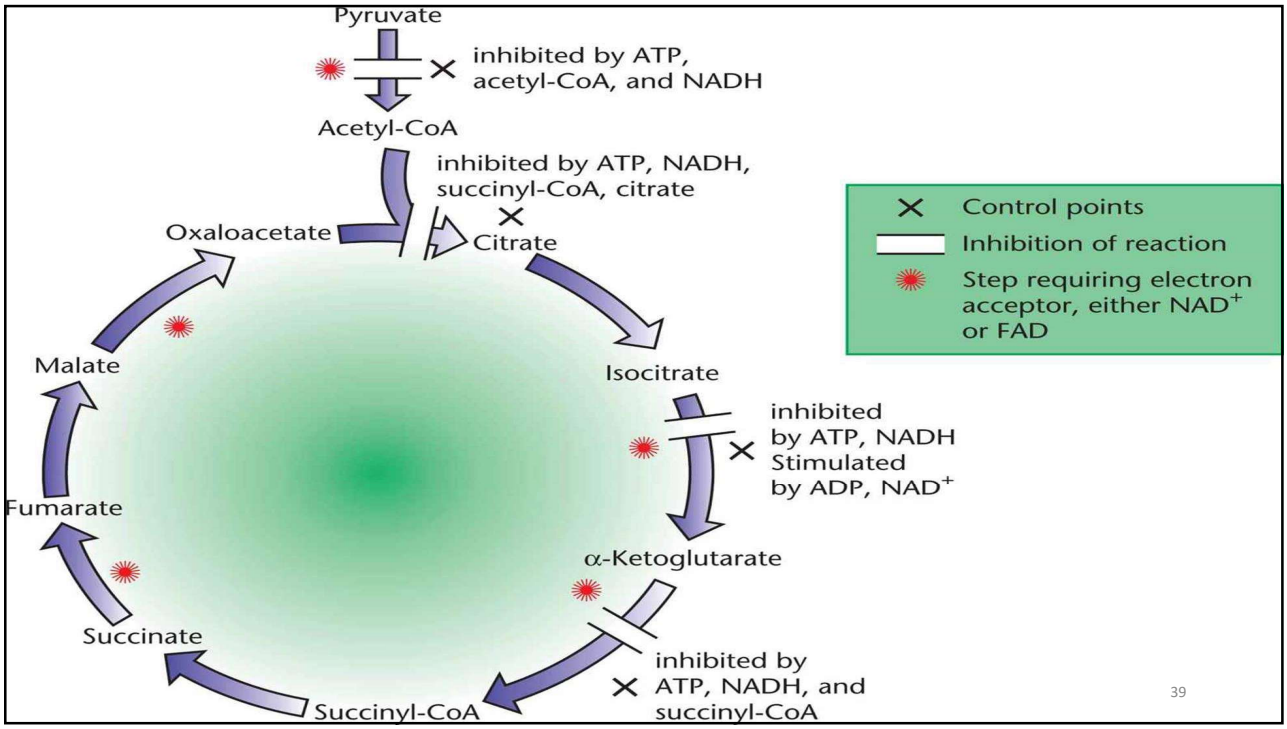


MTB-C5 FIGURES





MTB-C5 FIGURES



BILAN ENERGETIQUE DE L'OXYDATION DE L'ACETYL-CoA

- Deux atomes de carbone entrent dans le **cycle de l'acide citrique** sous forme d'acétyl-CoA et en ressortent sous forme de 2X CO_2 obtenus au cours des deux décarboxylations au niveau de l'isocitrate et de l'a-cétoglutarate.
- **Quatre paires d'hydrogène sortent du cycle de l'acide citrique , trois sous forme de NADH,H+ et une sous forme de FADH2**
- 1X liaison phosphate riche en énergie est formée sous forme de GTP.
- **En conclusion l'oxydation totale de l'acétyl-CoA permet la formation de approx. 12 liaisons phosphates riches en énergie (12 ATP).**
- **NB.** certaines mesures montrent que l'oxydation de NADH,H+ correspondrait à 2,5 ATP et celle de FADH2 à 1,5 ATP. Le bilan énergétique du cycle serait donc 10 ATP.
- **Trois principes gouvernent la régulation du cycle cycle de Krebs :**
- 1- **Disponibilité en substrats énergétiques** (glucose, pyruvate, acétyl-CoA)
- 2- **Inhibition par les produits accumules** : Régulation allostérique [Régulation allostérique interne au cycle]
- 3- **Régulation en amont au niveau du complexe multi-enzymatique de la pyruvate DH**.

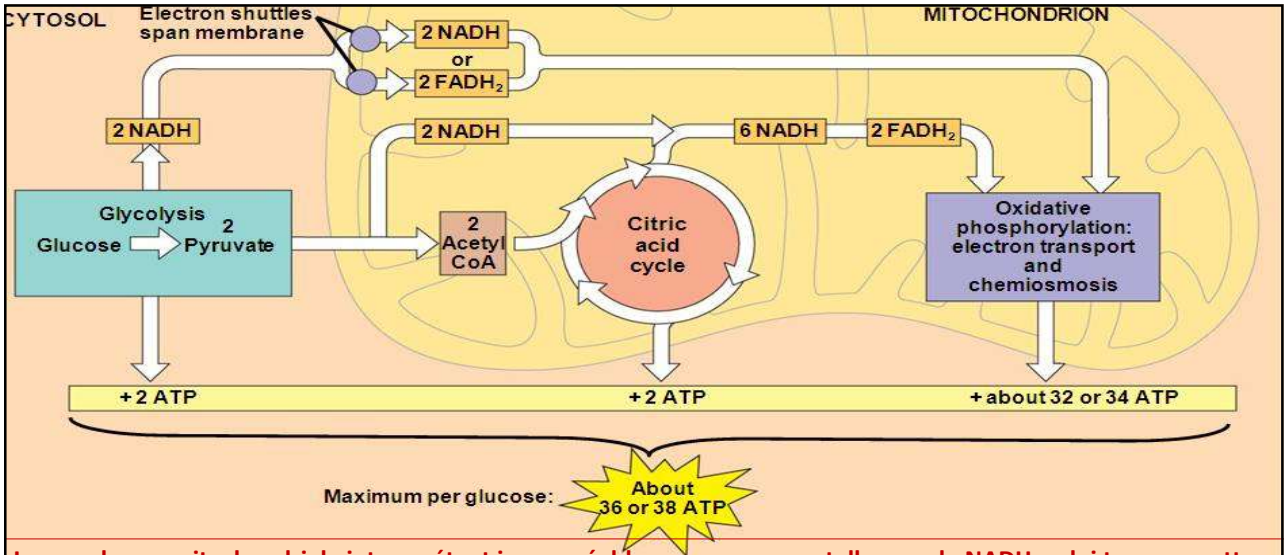
40

MTB-C5 FIGURES

Régulation du cycle de Krebs

- **Disponibilité en substrat**
- **En ce qui concerne la disponibilité en substrats, le cycle de Krebs et la glycolyse fonctionnent de façon coordonnée de telle sorte que la vitesse de déroulement de la glycolyse lui permette de fournir les substrats (pyruvate et acétyl-CoA) qui alimentent le Cycle de Krebs.**
- **En outre certains produits de réaction leur sont communs (ATP et NADH) et contribuent à leur régulation.**
- **L'activité de la citrate synthase peut être limitée par la disponibilité de l'oxaloacétate et l'acétyl-CoA.**
  - **Dans ce cas la synthèse du citrate devient un facteur limitant du cycle.**
- **Régulation allostérique interne au cycle de krebs**
- **Dans les conditions où les besoins énergétiques de la cellule sont satisfaits :**
- **- Le NADH s'accumule entraînant l'élévation du rapport NADH,/NAD+. Il bloque à la fois l'isocitrate DH et l'α-cétoglutarate DH.**
- **-Le citrate s'accumule et rétro-inhibe la citrate synthase.**
- **- Le succinyl-CoA s'accumule et devient un effecteur négatif de l'α-cétoglutarate DH.**
- **- L'ATP, le produit terminal du processus de la production de l'énergie inhibe la citrate synthase et l'α-cétoglutarate DH. L'inhibition de la citrate synthase par l'ATP est levée par l'ADP.**

41



La membrane mitochondriale interne étant imperméable aux coenzymes telles que le NADH, celui traverse cette membrane de façon indirecte

Cycle de l'acide citrique, sa fonction dans la génération d'énergie et la fourniture de précurseurs pour les voies biosynthétiques ; Réactions anaplérotiques

42

MTB-C5 FIGURES

La membrane mitochondriale interne est imperméable aux coenzymes telles que le NADH, celui traverse cette membrane de façon indirecte

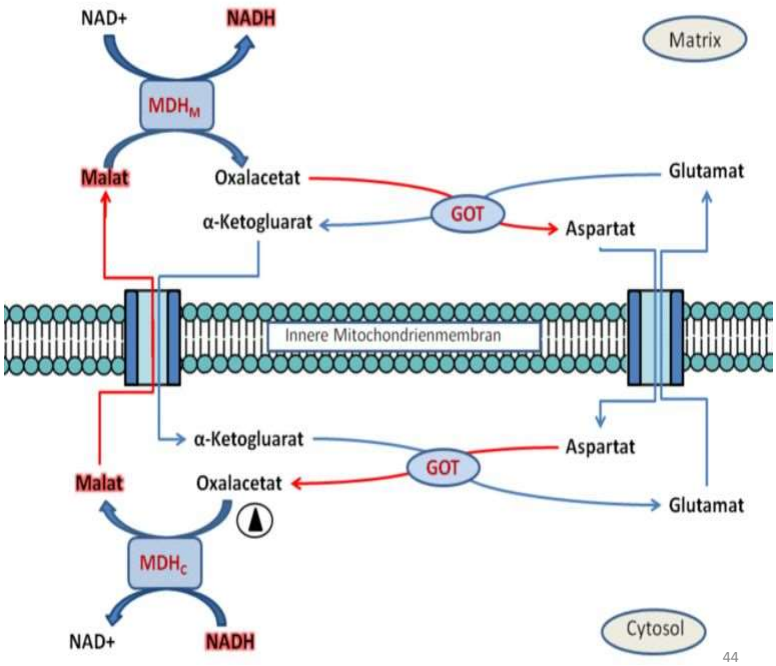
- **Deux types de mécanismes de navette ont pour guider des équivalents réducteurs cytosoliques dans la matrice, sans que le NADH lui-même n'entre réellement dans la matrice.**
- **Ces navettes sont:**

1. **la navette malate/aspartate**
2. **la navette phosphate de glycérol [Son importance est secondaire à celle de la navette malate-aspartate/ La quantité d'ATP produite par le moyen de navette de phosphate de glycerol est inférieure à celle obtenue par le navette malate-aspartate]**

43

Navette malate-aspartate

- La navette malate-aspartate **transporte 2 électrons sous forme de malate** à travers la membrane mitochondriale **interne**, tandis qu'**un α-cétoglutarate** quitte la matrice mitochondriale.
- Une transaminase régénère l'oxaloacétate, qui est réduit en malate.



44

MTB-C5 FIGURES

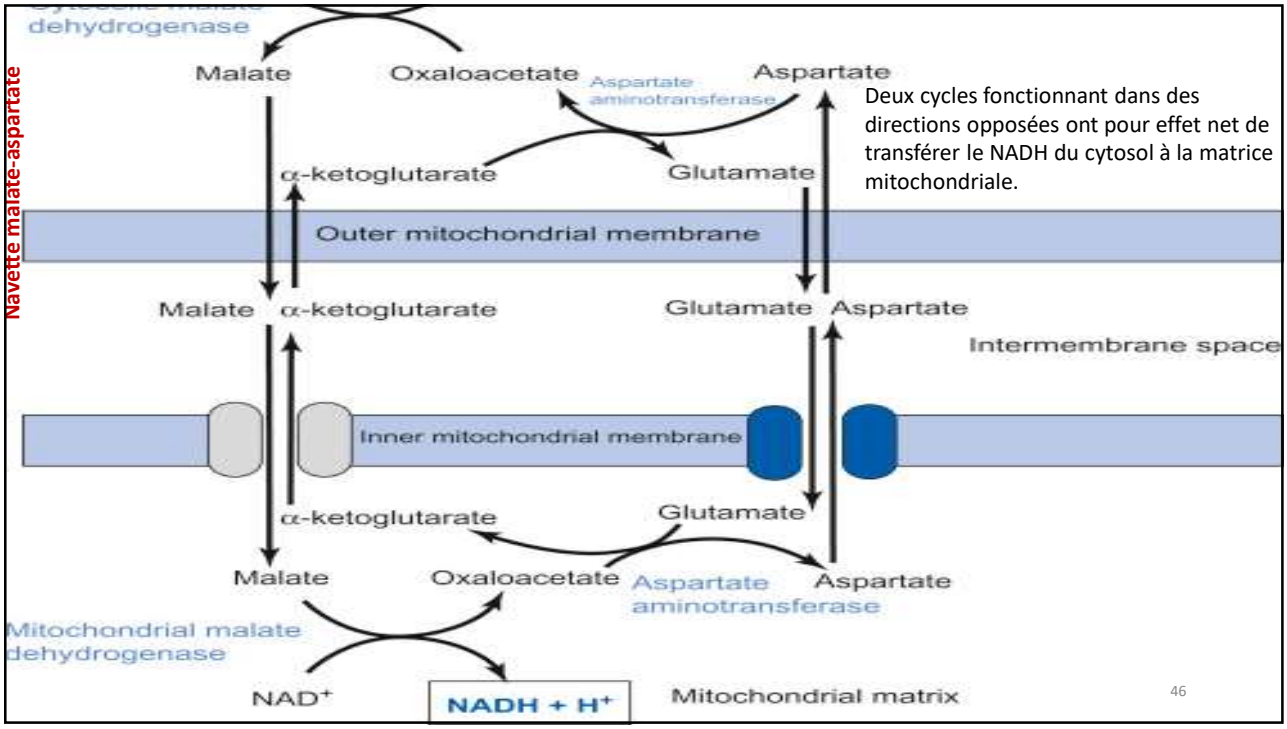
Navette malate-aspartate

Deux cycles fonctionnant dans des directions opposées ont pour effet net de **transférer le NADH du cytosol à la matrice mitochondriale**.

Cycle1; l'oxaloacétate est converti en malate tandis que le **NADH est converti en NAD+.** Le **malate traverse** la membrane mitochondriale **interne** où il est **reconverti en oxaloacétate et NADH**. L'**oxaloacétate** est ensuite **converti en aspartate**, qui **quitte les mitochondries** et retourne dans le cytosol où l'aspartate est reconverti en oxaloacétate.

Cycle2: se déroule en **sens inverse**. **L'entrée du malate** dans la **matrice** mitochondriale s'accompagne d'une **sortie de l'α-cétoglutarate**. Dans le cytosol, **l'α-cétoglutarate**. est transformé en **glutamate** par **l'aspartate amino transférase**, qui relie la réaction **α-cétoglutarate → glutamate** à la **réaction aspartate → oxaloacétate**. Le **glutamate échange avec l'aspartate** à travers la membrane mitochondriale **interne.**

45

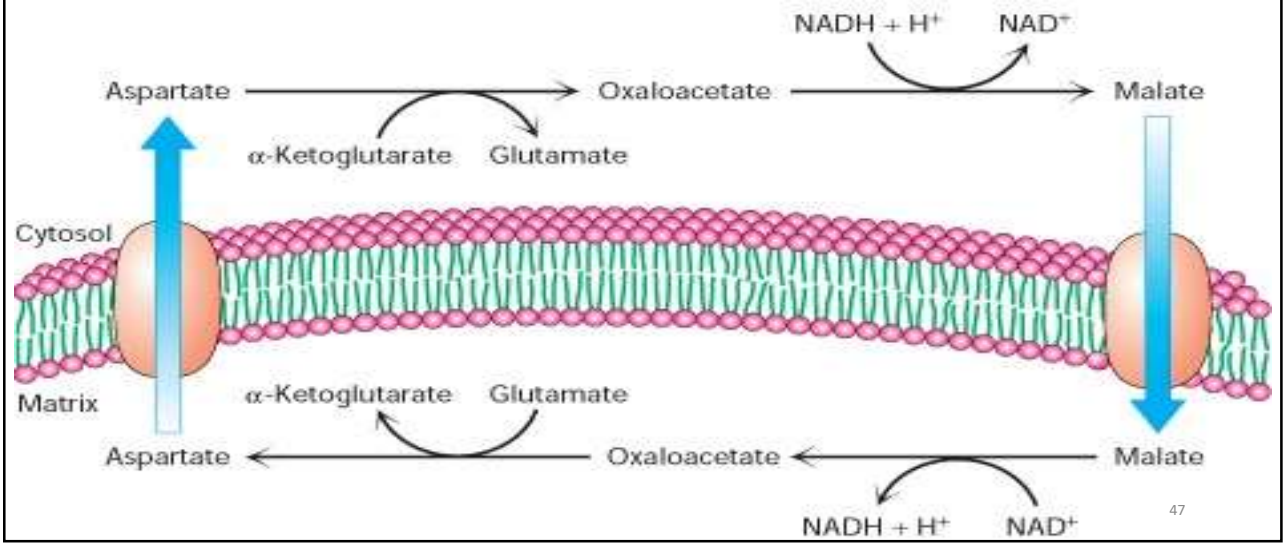


Deux cycles fonctionnant dans des directions opposées ont pour effet net de transférer le NADH du cytosol à la matrice mitochondriale.

46

MTB-C5 FIGURES

Navette malate-aspartate



47

- **<u>l'énorme quantité d'énergie</u>** dérivée de l'oxydation du glucose n'est pas extraite directement sous forme d'ATP,, mais sous **<u>forme de NADH</u>** réduit qui transfère des électrons de haute énergie à la **<u>chaîne de transport d'électrons</u>** dans la membrane mitochondriale **<u>interne</u>**.
- Ce **<u>NADH</u>** provient principalement du **<u>cycle de Krebs</u>** dans **<u>la matrice</u>** mitochondriale et est donc directement accessible au transport d'électrons. **Cependant, le <u>NADH généré pendant la glycolyse</u> ne peut pas atteindre directement la chaîne de transport d'électrons et il n'y a pas de mécanisme direct pour le transfert du NADH à travers la membrane mitochondriale**.
- Au lieu de cela, des mécanismes **de navette ont évolué pour déplacer l'énergie du NADH réduit à travers la membrane sous la forme d'autres molécules réduites**.
- Une navette est la navette glycérophosphate et une autre est la navette malate-aspartate.

48

MTB-C5 FIGURES

- **La navette malate-aspartate se produit dans les tissus de mammifères.**

1. Premièrement, **l'oxaloacétate du côté cytoplasmique** est **réduit par le NADH**, créant du **malate et du NAD+.**
2. Le **malate et les électrons** qu'il transporte sont transportés dans les mitochondries **à travers la membrane mitochondriale interne**, en **échange de l'alpha-cétoglutarate**, qui est **transporté hors des mitochondries**.
3. Une fois à l'intérieur, **l'énergie du malate** est à nouveau **extraite** en **réduisant le NAD+** pour en faire du **NADH**, régénérant l'**oxaloacétate**.
4. Ce **NADH** est alors libre de **transférer ses électrons** de haute énergie vers la **chaîne de transport d'électrons**.
5. **L'oxaloacétate est transaminé avec du glutamate** pour former de l'**aspartate** et de l'**alpha-cétoglutarate**.
6. L'**aspartate** est renvoyé dans le **cytosol** par le **transporteur aspartate-glutamate**, qui déplace le **glutamate dans les mitochondries** lorsqu'il en transporte l'aspartate.

- Le **résultat global** est que le **NADH** est **transporté dans les mitochondries** et peut être utilisé pour **générer 3 ATP** pour chaque NADH transporté depuis le cytosol, un processus très efficace.

49

La navette malate-aspartate

- Plusieurs navettes sortent dans les cellules pour transférer et équilibrer les équivalents réducteurs, NAD(P)/NAD(P)H, entre différents emplacements subcellulaires où les équivalents réducteurs sont nécessaires pour que différents métabolismes continuent.
- Dans le **cytosol**, la **réduction de l'oxaloacétate en malate** par une **malate déshydrogénase,** assure **l'oxydation du NADH en NAD+.**
- Le **malate est ensuite transporté** dans la **matrice mitochondriale** où une **malate déshydrogénase l'oxyde en oxaloacétate** avec **réduction du NAD+ en NADH**
- L'**oxaloacétate** ainsi produit dans la mitochondrie, **oxaloacétate** ne peut **traverser** la membrane mitochondriale et **une réaction de transamination** le tranformera en **aspartate** qu, **traverse cette membrane**.
- **Une deuxième transamination** dans le **cytosol redonnera de l'oxaloacétate.**
- **Ce cycle de navette permet ainsi de transférer les équivalents réducteurs d'un NADH cytosolique à un NADH mitochondrial, et donc de récupérer 3 ATP par NADH produit dans le cytosol.**

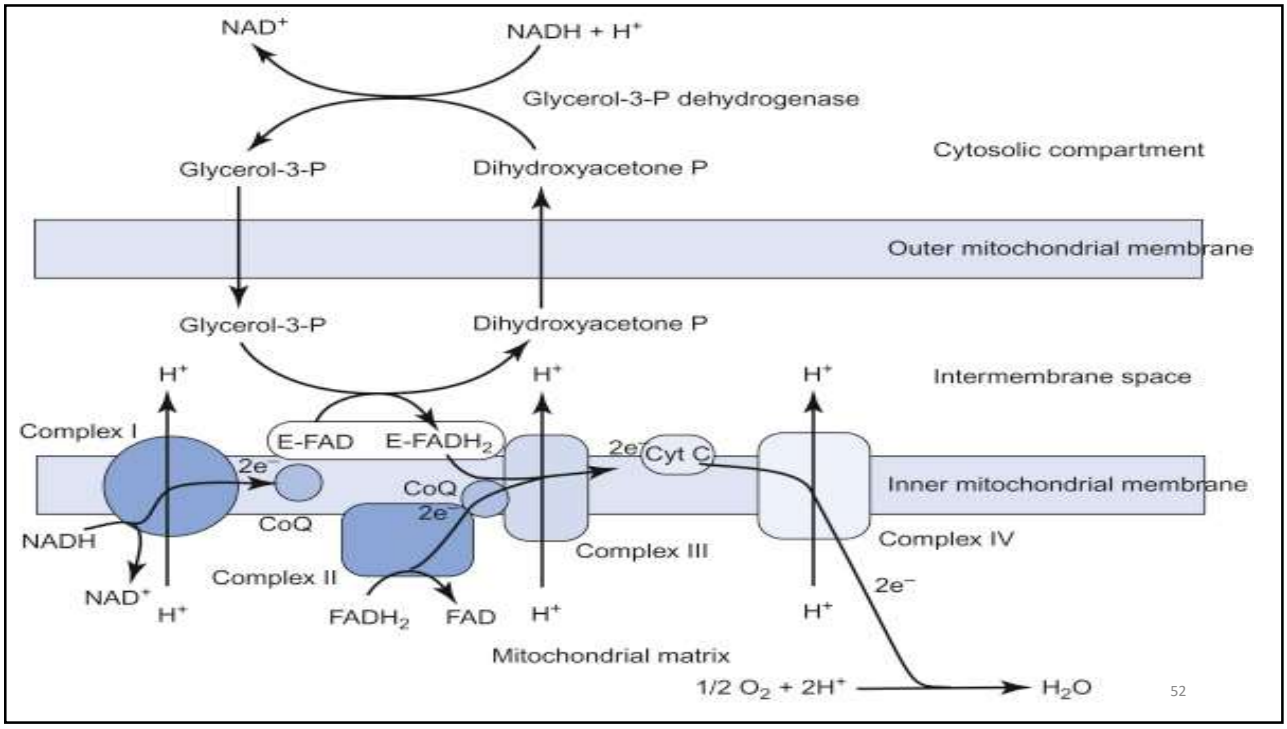
50

MTB-C5 FIGURES

navette glycérol phosphate

- système de navette de phosphate de glycérol **permet de NADH synthétisé dans le cytosol** lors de la **glycolyse** de contribuer à la phosphorylation oxydative qui se produit dans mitochondries dans le but de produire de l'ATP. Ce système a été trouvé chez les animaux, les champignons et les plantes.
- Dans la navette phosphate de glycérol, le NADH est oxydé en NAD+ par la glycérol-3-phosphate déshydrogénase cytosolique, tandis que le phosphate de dihydroxyacétone est simultanément réduit en glycérol-3-phosphate.
  - Le glycérol-3-phosphate pénètre ensuite dans la membrane externe mitochondriale et réduit le FAD en FADH2 par la glycérol-3-phosphate déshydrogénase mitochondriale pour former du dihydroxyacétone phosphate.
- **De cette façon, nous commençons avec le NADH cytoplasmique et le phosphate de dihydroxyacétone et nous finissons avec le FADH2 mitochondrial et le NAD+ cytoplasmique et le phosphate de dihydroxyacétone.**
- Ainsi, le **pouvoir réducteur du NADH est transféré à FADH2**, qui entre ensuite dans CTE pour générer approx. **2 molécules d'ATP**. Parce que le complexe I est contourné, seulement 2 ATP est fabriquée par molécule de NADH transmise aux mitochondries par la navette glycérol navette glycérol phosphate
- **Contrairement à la navette malate-aspartate, cependant, le fonctionnement du système de navette de phosphate de glycerol est indépendante de la concentration de NAD + et NADH présente dans la mitochondrie, fonctionnant en continu; pour cette raison, il est essentiel dans le métabolisme oxydatif du cerveau et les muscles.**

51



52

MTB-C5 FIGURES

La voie du glyoxalate /Glyoxylate Cycle
une voie alternative du métabolisme de l'acétyl-CoA

- **Le cycle du glyoxylate**, également connu sous le nom de **cycle de Toledo,** est une **voie alternative du métabolisme de l'acétyl-CoA**, présente dans les plantes et certaines bactéries, qui permet la **synthèse du glucose** et la production **d'intermédiaires du cycle de Krebs à partir de l'acétyl-CoA**.
- **Le cycle du glyoxylate permet la conversion de l'acétyl-CoA, et donc des acides gras, en glucose.**
- Dans le **cycle de Krebs**, **l'isocitrate est converti en alpha-cétoglutarate**, qui est converti en **succinate**, **tandis que** dans **le cycle du glyoxylate**, **l'isocitrate donne naissance au succinate et au glyoxylate**. Le **succinate régénère l'oxaloacétate** et le **glyoxylate se condense avec l'acétyl-CoA** pour former du **malate**.
- **malate** passera **au cytosol**, où il **donnera** naissance à l'**oxaloacétate**, qui peut être **transformé en glucose par gluconéogenèse**.
- **Le cycle du** glyoxylate n'est pas présente chez les animaux, en raison de l'importance de la voie conventionnelle vers le système nerveux.
  - **Le cycle du glyoxylate** ne produit pas d'alpha-cétoglutarate, un précurseur du glutamate. **Le glutamate agit comme un neurotransmetteur excitateur** et comme **précurseur du GABA**, [neurotransmetteur inhibitrice.]

53

La voie du glyoxalate /Glyoxylate Cycle
une voie alternative du métabolisme de l'acétyl-CoA,

- Le cycle du glyoxylate est une **voie métabolique dérivée du cycle de Krebs** participant à **l'anabolisme** des plantes, des bactéries, des protistes et des mycètes (champignons).
- Le **cycle du glyoxylate** est une **variante spéciale du cycle tricarboxylique (TCA)** qui permet **l'utilisation de composés à deux carbones en l'absence de glucose**.
  - **Le cycle du glyoxylate** n'est généralement **pas présent dans les tissus humains** et animaux et ne peut être trouvé que dans les plantes, les bactéries, les champignons et les protistes
- **La voie du glyoxalate convertit l'acétyl-CoA en succinate pour la biosynthèse des glucides.**
- Le **cycle du glyoxylate fait partie** de la voie **gluconéogénique**, essentielle à la croissance sur des substrats à deux carbones tels que l'éthanol et l'acétate.
- Dans un tour de cycle, deux acétyl-coA sont donc utilisées.
- **Le cycle du glyoxylate** intervient dans les **peroxysomes** et convertit l'**acétyl-CoA produit par la ß-oxydation** des acides gras **en succinate**. Ensuite, le **succinate** est converti en **malate par le cycle TCA.**

Les organismes, qui possèdent le cycle du glyoxylate, ont la capacité de fabriquer du glucose à partir des lipides

54

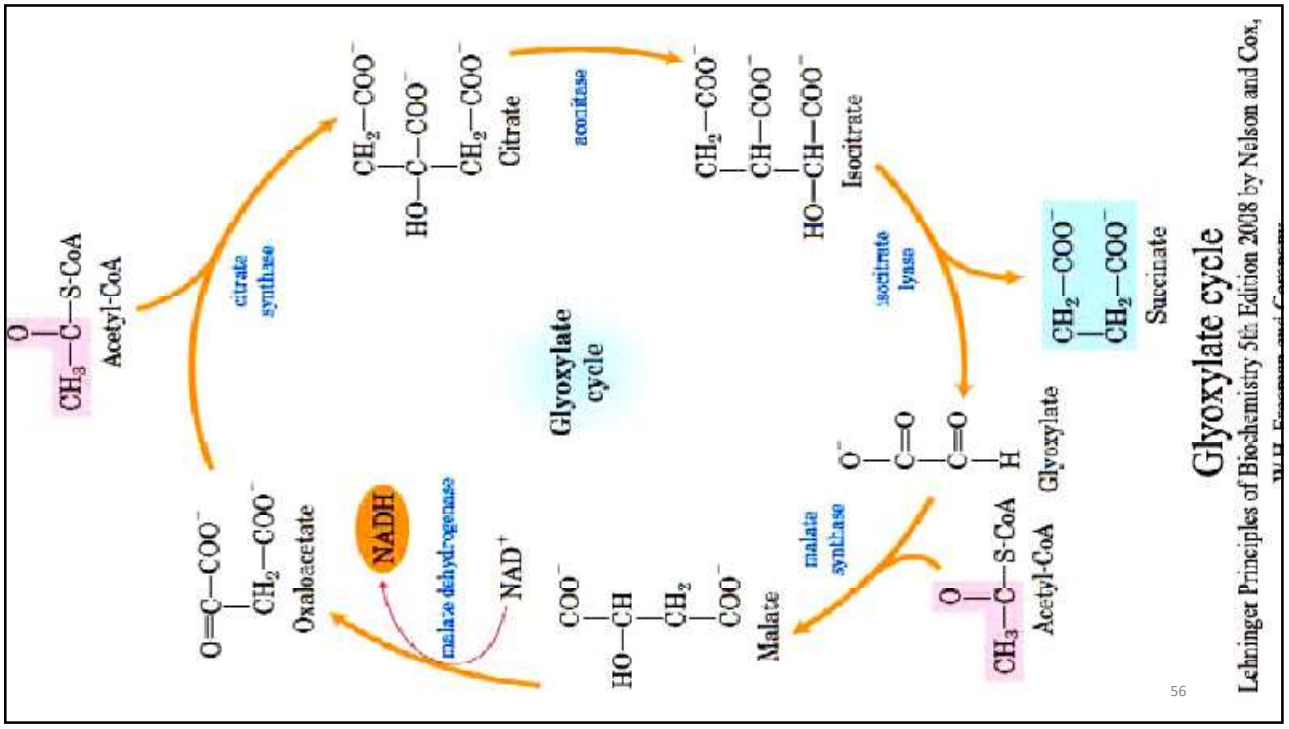
MTB-C5 FIGURES

La voie du glyoxalate / Glyoxylate Cycle

une voie alternative du métabolisme de l'acétyl-CoA,

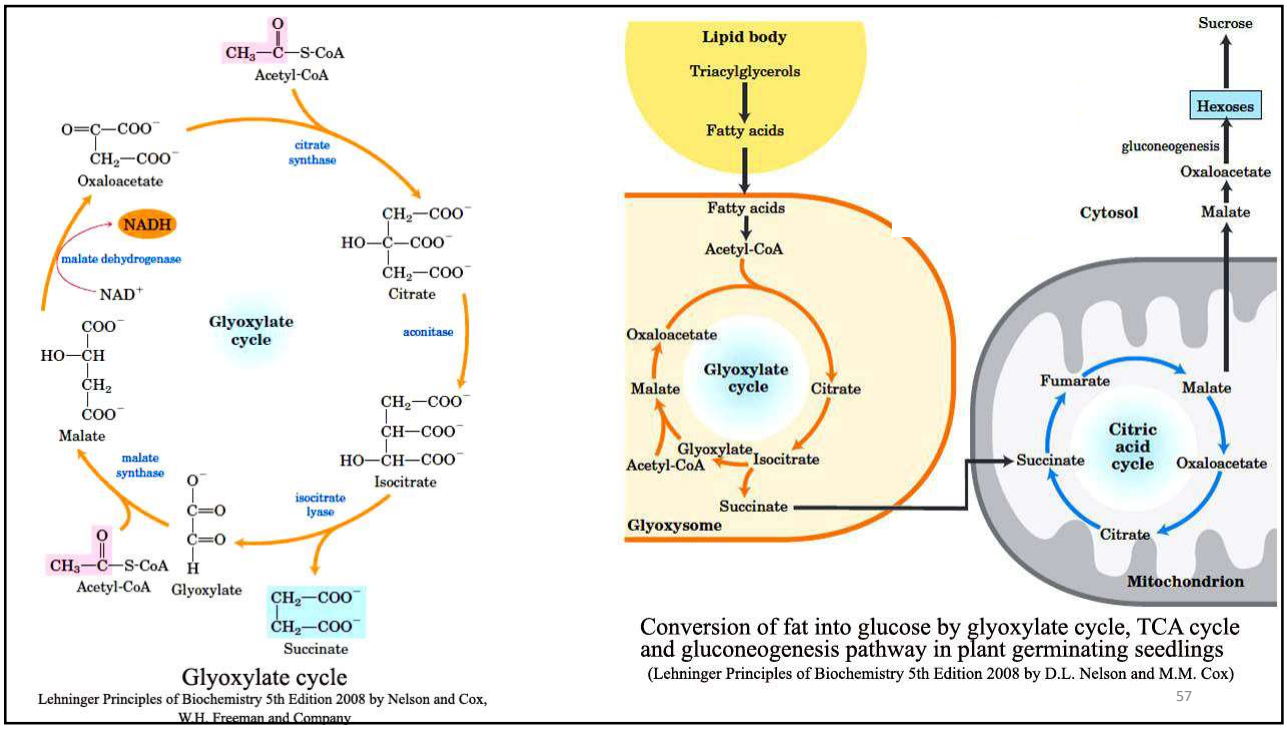
- **Dans le cycle de Krebs, l'isocitrate est converti en alpha-cétoglutarate, qui est converti en succinate, tandis que dans le cycle du glyoxylate, l'isocitrate donne naissance au succinate et au glyoxylate.**
- Le succinate régénère l'oxaloacétate et le glyoxylate se condense avec l'acétyl-CoA pour former du malate
- malate passera au cytosol, où il donnera naissance à l'oxaloacétate, qui peut être transformé en glucose par gluconéogenèse.
- **Le cycle du glyoxylate permet ainsi la conversion de l'acétyl-CoA, et donc des acides gras, en glucose.**
- **Les organismes, qui possèdent le cycle du glyoxylate, peuvent procéder à une oxydation ménagée de l'acétyl-CoA en glyoxylate. Comme ils disposent en même temps de la malate synthase, enzyme n'appartenant pas au cycle du glyoxylate, ils ont la capacité de condenser le glyoxylate et l'acétyl-CoA pour former du malate. malate est un précurseur de la néoglucogenèse.**
- **En conclusion ces organismes peuvent fabriquer du glucose à partir des lipides**
- Les **cycles du glyoxylate et de l'acide citrique partagent des intermédiaires communs** qui nécessitent que les cycles Krebs et **glyoxalate** sont **régulé ensemble**. L'un des intermédiaires cruciaux est l'isocitrate, trouvé au point de ramification parmi l'acide citrique et les cycles de glyoxylate

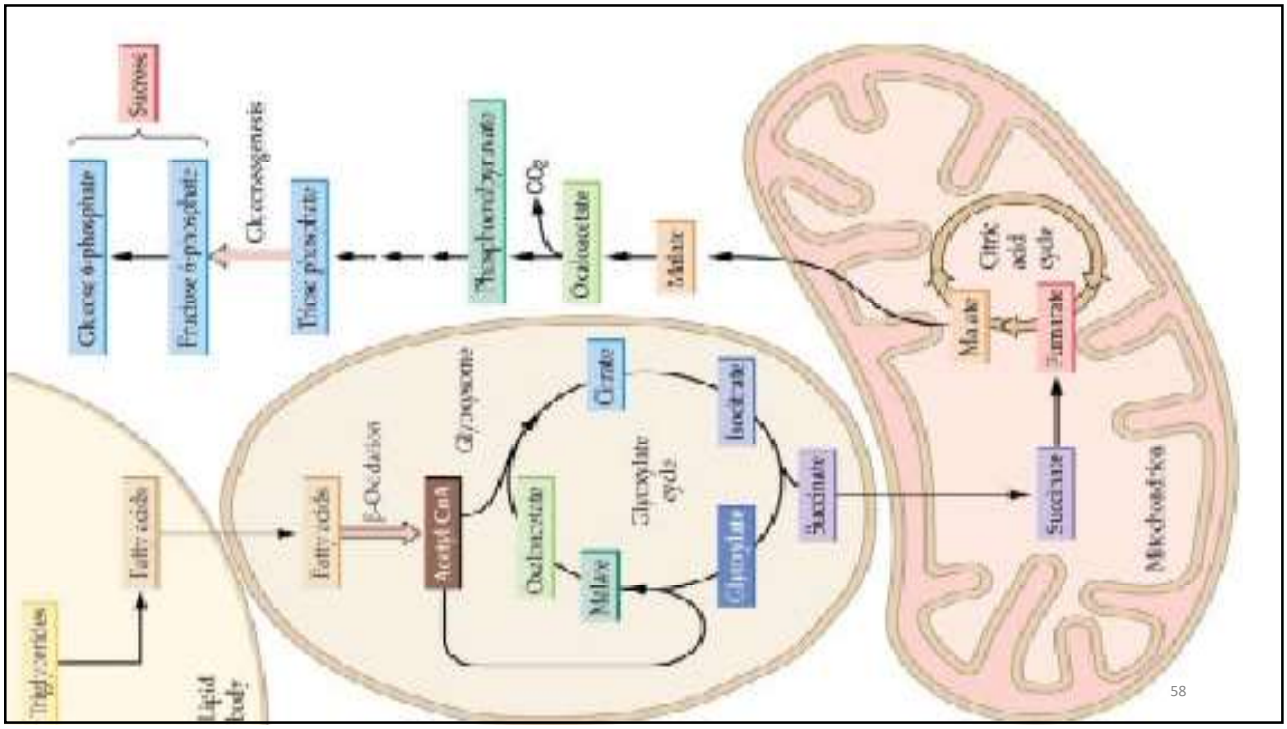
55



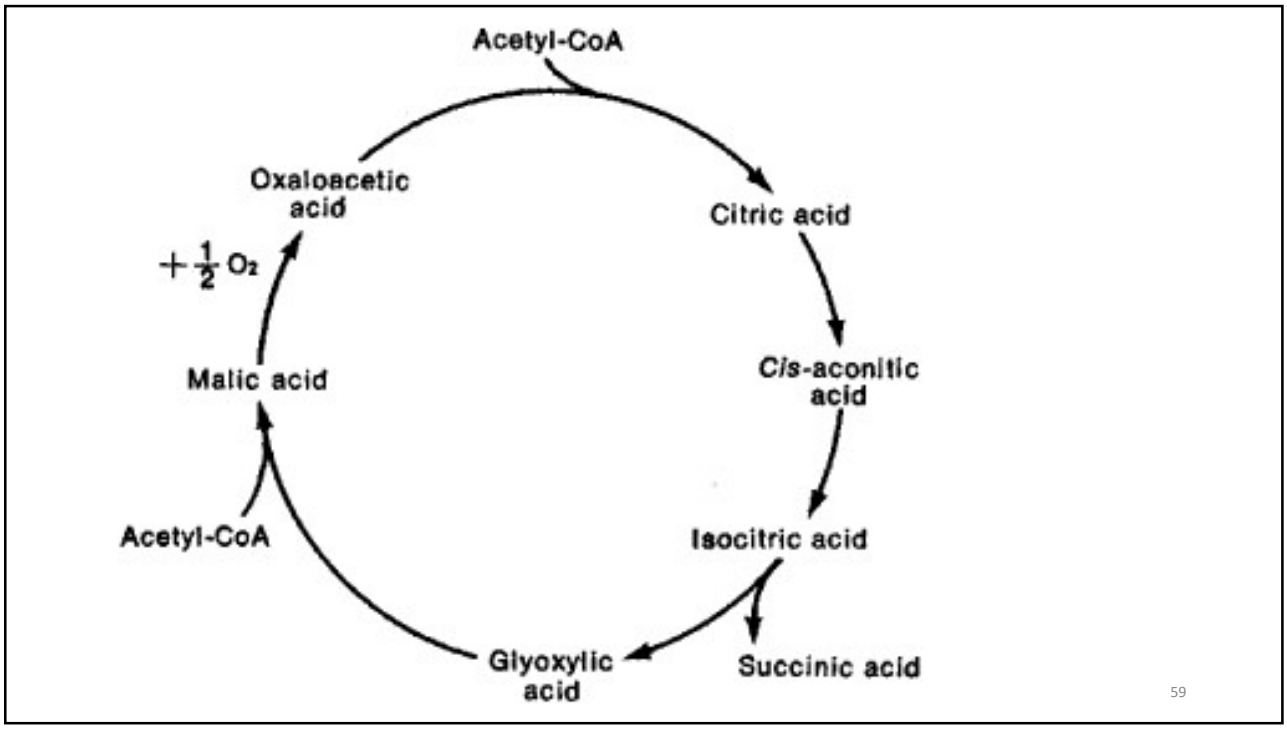
56

MTB-C5 FIGURES

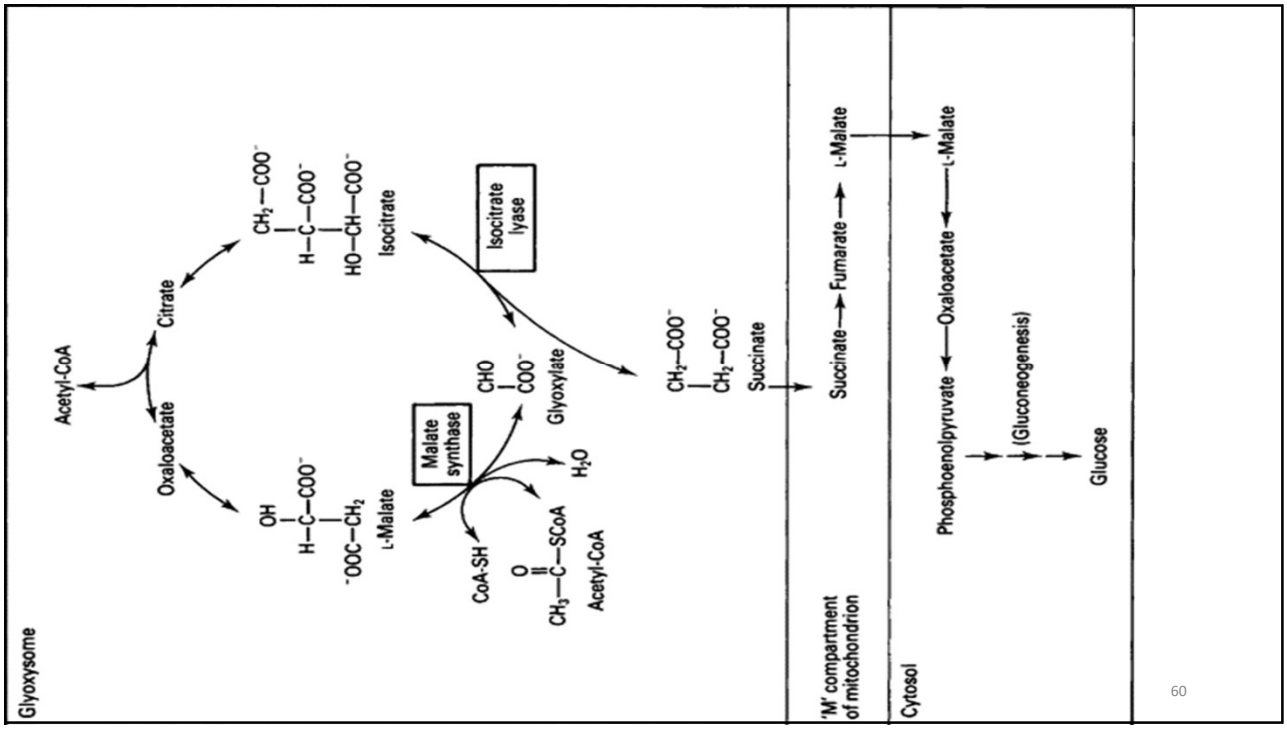




MTB-C5 FIGURES



59



60